

Aus der Medizinischen Universitätsklinik in Marburg
Direktor: Professor Dr. med. G.A. Martini

ENZYME DES ENERGIESTOFFWECHSELS IN DER
DÜNNDARMMUKOSA DER RATTE

EINFLUSS EINER HYPOPHYSEKТОMIE UND
NACHFOLGENDEN SUBSTITUTION MIT
STH, ACTH UND GTH

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität zu Marburg
vorgelegt von

PAUL-MARTIN GREBE

aus Schwalmstadt

Marburg 1976

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg (Lahn)

Aus der Medizinischen Universitätsklinik in Marburg
Direktor: Professor Dr. med. G.A. Martini

ENZYME DES ENERGISTOFFWECHSELS IN DER
DÜNNDARMMUKOSA DER RATTE

EINFLUSS EINER HYPOPHYSEKТОMIE UND
NACHFOLGENDEN SUBSTITUTION MIT
STH, ACTH UND GTH

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität zu Marburg
vorgelegt von

PAUL-MARTIN GREBE

aus Schwalmstadt

Marburg 1976

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg (Lahn)



Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Universität Marburg am 23. Januar 1976
gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Dekan: Prof. Dr. Oepen
Referent: Prof. Dr. H. Goebell
Correferent: Prof. Dr. E.-O. Riecken

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

I.	E i n f ü h r u n g	1
1.	<u>Die normale Dünndarmschleimhaut</u>	1
2.	<u>Die pathologische Dünndarmschleimhaut</u>	2
3.	<u>Bisherige Untersuchungen über den Einfluß von Hormonen auf die Dünndarmschleimhaut</u>	3
4.	<u>Thema</u>	7
II.	M e t h o d i k	10
1.	<u>Versuchsanordnungen</u>	10
2.	<u>Herstellung der Homogenate und Extrakte</u>	11
3.	<u>Proteinbestimmung im Homogenat</u>	12
a)	Herstellung der Biuret-Protein-Lösung	12
b)	Messungen	12
c)	Gebrauchte Lösungen	12
d)	Berechnung des Proteingehaltes der Gewebeproben	12
4.	<u>D N S - Bestimmung im Homogenat</u>	13
a)	Herstellung eines lagerungsbeständigen Extraktes	13
b)	Messungen	13
c)	Gebrauchte Lösungen	13
d)	Berechnung des D N S - Gehaltes der Gewebeproben	13
5.	<u>Enzymbestimmungen</u>	14
a)	Messungen	14
b)	Testzusammensetzungen	14
c)	Berechnung der Enzymaktivitäten	19
6.	<u>Cortisolbestimmung im Plasma</u>	20

	Seite
7. <u>Verzeichnis der gebrauchten Abkürzungen</u>	20
a) Verwendete Substrate und Coenzyme	20
b) Verwendete Chemikalien	21
c) Pufferlösungen	21
d) Sonstiges	21
8. <u>Mathematischer Anhang</u>	22
III. E r g e b n i s s e	23
1. <u>Überprüfung des Hypophysektomie- erfolges</u>	23
a) Rattengewichte	23
b) Plasmacortisolspiegel	23
2. <u>Proteinkonzentrationen</u>	24
3. <u>D N S - Konzentrationen</u>	25
4. <u>Enzymaktivitätsmuster</u>	25
a) Das normale Enzymmuster	25
b) Das Enzymmuster bei Hypophysektomie	32
c) Das Enzymmuster bei Substitution	36
(1) Das Enzymmuster bei S T H - Substitution	36
(2) Das Enzymmuster bei A C T H - Substitution	39
(3) Das Enzymmuster bei G T H - Substitution	39
5. <u>Anhang</u>	47
IV. D i s k u s s i o n	50
1. <u>Das normale Enzymmuster</u>	50
2. <u>Das Enzymmuster bei Hypophysektomie</u>	57
3. <u>Das Enzymmuster bei Substitution</u>	60
V. Z u s a m m e n f a s s u n g	63
VI. L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s	65

I. Einführung

1. Die normale Dünndarmschleimhaut

Die normale Dünndarmschleimhaut besteht aus finger- bis blattförmigen Zotten mit dazwischenliegenden Krypten (46), aus denen sich das Zottenepithel ständig regeneriert (35). Unter physiologischen Verhältnissen liegt dabei ein nahezu optimales Verhältnis zwischen unausgereiftem, proliferierendem Kryptenepithel und ausgereiftem Resorptionsepithel der Zotten vor (46). Enzymreaktionen lassen sich histochemisch vorwiegend im Epithel nachweisen, wobei die oberflächlichen Lagen, insbesondere die Zottenspitzen am intensivsten reagieren (31, 41, 33, 7a).

Die Resorption als Hauptfunktion des Schleimhautepithels erfolgt weitgehend durch aktive Transportvorgänge und steht daher in enger Beziehung zum Energiestoffwechsel. Dickens und Weil-Malherbe (1941; 10) sowie Rosenthal (1947; 48) fanden in der Dünndarmmukosa eine hohe anaerobe und aerobe Energiegewinnung.

In mehreren Arbeiten (53, 48, 7a, 7, 33, 58, 57) wurde die glykolytische Kapazität der Dünndarmschleimhaut gemessen. Eine erste eingehende biochemische Analyse der glykolytischen Reaktionen wurde von Srivastava und Hübscher (53) durchgeführt. Sie fanden 80 bis 107 % der glykolytischen Leistung der Homogenate im klaren Überstand wieder. Die Hexokinase und Fruktose-6-phosphat-Kinase erwiesen sich als begrenzende Enzyme der Anfangsphase der Glykolyse.

Außerdem existieren mehrere Arbeiten über die Aktivitäten einzelner glykolytischer Enzyme in der Dünndarmschleimhaut (53). Besonders eingehend wurde die Hexokinaseaktivität untersucht (53, 52, 22, 37, 38, 24, 58), wobei auch ihre Reaktion auf verschiedene äußere Einflüsse beurteilt wird (53, 56, 50, 55, 40). Die Aktivität der Fruktose-6-

phosphat-Kinase wurde von Ho und Anderson (24) im Homogenat und im klaren Überstand gemessen; in beiden Testlösungen hatte sie eine erheblich höhere Aktivität als die Hexokinase, was als Zeichen der übergeordneten Stellung der Hexokinase bei der Steuerung der Glykolyse in der Jejunumukosa gewertet wurde.

Erste Nachweise einzelner Enzyme des Pentose-Phosphat-Shuntes wurden von Glock und McLean (1954; 16), Hübscher und Sherrat (1962; 27) und Hübscher u.a. (1963; 26) durchgeführt. Bei einer umfassenden Untersuchung der Enzyme dieses Seitenweges der Glykolyse fanden Srivastava und Hübscher (54) für einige Enzyme eine höhere spezifische Aktivität als in der Leber. Auch bei diesem System konnte nahezu die gesamte enzymatische Leistung des Homogenates im klaren Überstand nachgewiesen werden. Bell und Sherrat (4) konnten die hohe Kapazität der direkten Glukoseoxydation bestätigen. Weitere biochemische und histochemische Nachweise der Glukose-6-phosphat-Dehydrogenase und 6-phospho-Glukonat-Dehydrogenase liegen vor (57, 33, 55, 7a).

Die Literaturangaben über Messungen der Enzymaktivitäten des Trikarbonsäurezyklus sind spärlich (31, 32, 33, 39, 57) und auch über die anderen von uns untersuchten Enzyme liegen nur wenige Arbeiten vor (GOT/PT 39; GluDH 7a; HOADH 7a, 33, 31; FDP 1, ME 57; GDH 31, 33).

2. Die pathologische Dünndarmschleimhaut

Die pathologischen Dünndarmschleimhautbilder (46) lassen sich auf zwei Reaktionsformen zurückführen, die hypo- und hyperregeneratorische Schleimhaut.

Letztere ist gekennzeichnet durch eine gesteigerte Zellproliferation in den Krypten und verstärkte Exfoliation epithelialer Zellen in das Darmlumen; es resultiert eine Zottenreduktion bei gleichzeitiger Zunahme der Krypten-

tiefe. Bei der hyporegeneratorischen Form liegt dagegen eine herabgesetzte mitotische Aktivität in den Krypten vor, und es kommt zu einer parallelgehenden Reduktion der Zotten und Krypten.

Die aktuellen Schleimhautbilder sind dabei als Ergebnisse endogener und exogener Faktoren anzusehen. Die hyperregeneratorischen Schleimhautveränderungen sollen vorwiegend durch exogene Faktoren hervorgerufen werden; als typisches Krankheitsbild sei die einheimische Sprue genannt. Hyporegeneratorische Reaktionsformen oder Zotten- bzw. Schleimhautatrophie im engeren Sinne treten unter dem Einfluß exogener, z.B. Antimitotika, Irradiation, Nahrungsmangel und endogener Störungen auf.

3. Bisherige Untersuchungen über den Einfluß von Hormonen auf die Dünndarmschleimhaut

Die Ergebnisse bisheriger Untersuchungen über den Einfluß von Hormonen auf Struktur und Funktionen der Dünndarmschleimhaut wurden von Levin (36) zusammengefaßt und kritisch analysiert. Er beschreibt vier Wege, über die Hormone die Dünndarmschleimhaut beeinflussen können.

1. Der direkte Angriff an der Mukosazelle, z.B. auf die Mitoserate in den Krypten und die Differenzierung unreifer Zellen.
2. Eine indirekte Wirkung auf Organniveau, z.B. über die Geschwindigkeit der Magendarmpassage.
3. Änderungen im Verhalten des ganzen Tieres, z.B. bezüglich Art und Menge der Nahrungsaufnahme.
4. Die Wirkung an der Dünndarmschleimhaut im Zusammenspiel mit oder über andere Hormone.

Diese unterschiedlichen Wirkungsmechanismen machen verständlich, daß bei jeder Beurteilung von Hormoneffekten

an der Dünndarmschleimhaut eine besondere Zurückhaltung und kritische Stellungnahme nötig ist.

Eine weitgehende hormonelle Umstellung wird durch die Hypophysektomie hervorgerufen. Neben dem Ausfall effektorischer Hormone kommt es durch das Fehlen glandotroper Hormone, nämlich des Thyreotropin, Corticotropin und der Gonadotropine, zu einer Insuffizienz der untergeordneten hormonbildenden Organe, wodurch eine Hypothyreose, eine Nebennierenrindenunterfunktion und ein Hypogonadismus entstehen. Letztere allein dürften aber schon mit Veränderungen an der Dünndarmschleimhaut einhergehen. Wegen der breiten Insuffizienz nach Hypophysektomie hält Levin diese Technik bei der Untersuchung von Hormoneinflüssen an der Dünndarmschleimhaut nur in Verbindung mit Substitutionsversuchen für sinnvoll.

Bereits 1930 erwähnte Smith (51) eine Verkleinerung des Darmes als eine Hypophysektomiefolge. Friedmann (14) wies nach, daß der Gewichtsverlust des Darmes in erster Linie durch eine Atrophie der Schleimhaut hervorgerufen wird. Die histologischen und chemischen Veränderungen des Dünndarmes nach Hypophysektomie wurden von Havivi und Levitan (20) untersucht; so fanden sie bei Ratten nach Hypophysektomie u.a. eine Abnahme des Dünndarmdurchmessers und des Darmgewichtes und die Zotten waren kürzer und meist auch breiter und stumpfer. Riecken (46) ordnet die Schleimhautveränderungen nach Hypophysektomie in die Gruppe der hyporegeneratorischen Schleimhautatrophie ein.

Die Veränderungen der Enzymaktivitäten in der Dünndarmmukosa nach Hypophysektomie wurden bisher nur selten untersucht. Havivi und Levitan (20) fanden 4 bis 7 Tage nach Hypophysektomie eine starke Zunahme der Hexokinaseaktivität, während Nishikawara und Gabrielson (42) einen signifikanten Aktivitätsabfall der Hexokinase 3 bis 4 Wochen nach Hypophysektomie beschreiben; letztere untersuchten auch den Einfluß der Hypophysektomie auf die Phospha-

taseaktivität in der Dünndarmschleimhaut.

Die Ergebnisse der funktionellen Untersuchungen der Dünndarmschleimhaut nach Hypophysektomie lassen sich nicht in ein einfaches Schema einfügen. Dies ist einmal darauf zurückzuführen, daß bei den angewandten Untersuchungsmethoden meist keine ausreichende Trennung zwischen primären und sekundären Hormoneffekten möglich ist. Besondere Bedeutung scheint dabei der gleichartigen Ernährung von Versuchs- und Kontrolltieren zuzukommen (pair-fed controls; 36). Auf der anderen Seite fanden Finkelstein und Schachter (13) nach Hypophysektomie unter identischen Versuchsbedingungen zum Teil gegensätzliche Veränderungen des Kalzium-, Prolin-, Galaktose- und Eisentransportes über die Dünndarmschleimhaut, und es muß deshalb ein spezifischer Einfluß der Hypophysektomie auf verschiedene Leistungen der Dünndarmschleimhaut diskutiert werden.

Besonders knapp sind Untersuchungen über den Einfluß des somatotropen Hormones auf die Dünndarmschleimhaut. Dorchester und Haist (12) zeigten, daß STH den Gewichtsverlust des Darmes nach Hypophysektomie wieder ausgleicht, und Leblond und Carriere (34) wiesen eine Steigerung der mitotischen Aktivität in den Krypten durch STH nach. Ebenso wie bei der Hypophysektomie zeigen auch die vorliegenden funktionellen Untersuchungen des STH-Einflusses auf die Dünndarmschleimhaut (36, 12a, 13) keine einheitlichen Veränderungen.

Levin (36) kommentiert eine Reihe von Arbeiten, in denen der Einfluß der Adrenalektomie auf die Dünndarmschleimhaut untersucht wird. Durch diese Manipulation wird eine Insuffizienz der gesamten Nebenniere unter Einschluß des Nebennierenmarkes mit seinen Hormonen Adrenalin und Noradrenalin imitiert. Seinen Ausführungen zufolge scheinen die Katecholamine allein jedoch schon Einflüsse auf die Dünndarmschleimhaut zu haben. Als weitere Besonderheit nach Adrenalektomie stellt er heraus, daß sich die meisten pathologischen Veränderungen im Anschluß an eine Adrenalek-

tomie durch Fütterung der Tiere mit Kochsalzlösung aufheben lassen; sie werden also nur durch Elektrolytveränderungen nach Adrenalektomie hervorgerufen. Bei der Beurteilung von Adrenalektomiefolgen muß daher zwischen "kompensierter" und "nicht kompensierter" Adrenalektomie unterschieden werden. Als Resümee zu Levins Ausführungen kann gesagt werden, daß der Kohlenhydrat- und Aminosäuretransport über die Dünndarmschleimhaut autonom arbeiten und nicht der direkten Kontrolle der Nebennierenrindenhormone unterliegen. Dasselbe scheint nach *in-vitro*-Untersuchungen für den Flüssigkeitsstrom über die Dünndarmschleimhaut zu gelten. Die bisherigen Untersuchungen von Enzymaktivitäten in der Dünndarmschleimhaut nach Adrenalektomie befassen sich nur mit einzelnen Enzymen, die mit spezifischen Veränderungen reagieren. So soll z.B. die Aktivität der alkalischen Phosphatase sowohl nach nicht kompensierter als auch nach kompensierter Adrenalektomie abnehmen, die Hexokinase (38) auch von nicht kompensierter Adrenalektomie unbeeinflusst bleiben, während die ATPase bei nicht kompensierter Adrenalektomie (38) einen Aktivitätsverlust zeigt.

Im Gegensatz zur Adrenalektomie führt die Hypophysektomie an der Nebenniere nur zu einer isolierten (sekundären) Insuffizienz der Rinde unter Ausschluß des Nebennierenmarkes. Dabei bleibt eine Basisfunktion der Nebennierenrinde erhalten, insbesondere die Ruheinkretion von Aldosteron (30b) bleibt unbeeinflusst und der Elektrolyt- und Wasserhaushalt dadurch nahezu normal. Die sekundäre Nebennierenrindeninsuffizienz nach Hypophysektomie ist daher am ehesten mit der kompensierten Adrenalektomie vergleichbar. Enzymaktivitätsuntersuchungen nach Hypophysektomie in Verbindung mit ACTH-Substitution liegen jedoch nicht vor. Desgleichen fehlen Untersuchungen über den Einfluß der Gonadotropine auf die Dünndarmschleimhaut.

Schließlich befaßt sich Levin (36) noch mit dem Einfluß der Schilddrüsen- und Pankreashormone auf die Dünndarmschleimhaut, was jedoch über den Rahmen dieser Arbeit hinausgehen würde.

4. Thema

Offensichtlich bestehen zahlreiche ungeklärte Fragen über den Einfluß der Hypophysenhormone auf die Dünndarmschleimhaut. Die klassische Methode zum Nachweis einer Hormonwirkung besteht nun darin, die Hormonquelle zu entfernen, sich anschließende Gewebeeränderungen abzuwarten und dann das Hormon exogen zu substituieren (29).

In der vorliegenden Arbeit wurde zunächst eine systematische Analyse der Enzymausstattung der Dünndarmschleimhaut des Jejunums der Ratten unter besonderer Berücksichtigung des Energiestoffwechsels durchgeführt. Außerdem bestimmten wir den Protein- und DNS-Gehalt in der Mukosa. Einer Gegenüberstellung der Enzymmuster bei normalen und hypophysektomierten Ratten folgte schließlich der Versuch, die Hypophysektomieeffekte durch isolierte Substitution mit somatotropem, adrenocorticotropem und gonadotropem Hormon auszugleichen.

Abb. 1 zeigt ein Stoffwechselschema mit den gemessenen Enzymen, deren genaue Bezeichnung aus Tab. 1 entnommen werden kann.

Pentose-Phosphat-Shunt

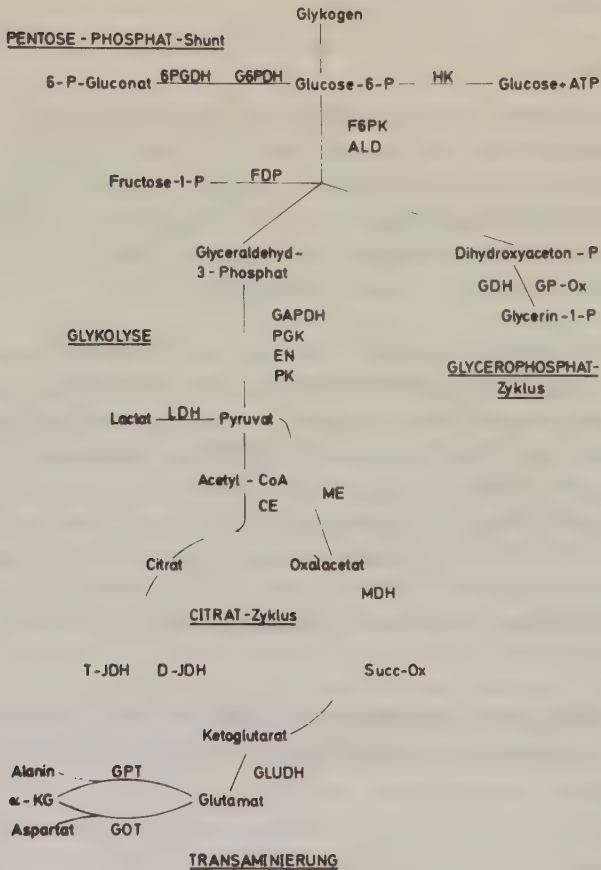


Abb. 1:

Stoffwechselschema mit den gemessenen Enzymen des Embden-Meyerhof-Weges, der Glykolyse, der direkten Glukoseoxydation, des Glycerophosphat-Zyklus, des Tricarbonsäurezyklus und der Transaminierung.

Tabelle 1:

Namen der in Abb. 1 angegebenen Enzyme und die dazugehörigen internationalen Abkürzungen; in Klammern die E.C.-Nummern der Enzyme (45a).

Enzyme des Embden-Meyerhof-Weges:

(Hauptweg: Glykolyse)

1. Hexokinase	HK	(2.7.1. 1)
2. Fruktose-6-phosphat-Kinase	F-6-PK	(2.7.1.11)
3. Fruktose-di-Phosphatase	FDP	(3.1.3.11)
4. Fruktose-1,6-diphosphat-Aldolase	ALD	(4.1.2. 7)
5. Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase	GAPDH	(1.2.1.12)
6. 3-Phosphoglycerat-Kinase	PGK	(2.7.2. 3)
7. Enolase	EN	(4.2.1.11)
8. Phosphoenolpyruvat-Kinase	PK	(2.7.1.40)
9. Laktatdehydrogenase	LDH	(1.1.1.27)

(Seitenweg: Glycerophosphat-Zyklus)

10. Glycerin-1-phosphat-Dehydrogenase	GDH	(1.1.1. 8)
11. Glycerin-1-phosphat-Oxydase	GP-Ox	(1.1.2. 1)

Enzyme des Pentose-Phosphat-Shunts:

12. Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase	G-6-PDH	(1.1.1.49)
13. 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase	6-PGDH	(1.1.1.44)

Enzyme des Trikarbonsäure-Zyklus:

14. Malic-Enzyme	ME	(1.1.1.38)
15. Condensing-Enzyme	CE	(4.1.3. 7)
16. Isocitrat-Dehydrogenase (TPN-spez.)	T-IDH	(1.1.1.42)
17. Isocitrat-Dehydrogenase (DPN-spez.)	D-IDH	(1.1.1.41)
18. Succinat-Dehydrogenase	Succ-Ox	(1.3.99.1)
19. Malat-Dehydrogenase	MDH	(1.1.1.37)

(Seitenweg zum Aminosäurestoffwechsel)

20. Glutamat-Dehydrogenase	GluDH	(1.4.1. 3)
21. Glutamat-Oxalacetat-Transaminase	GOT	(2.6.1. 1)
22. Glutamat-Pyruvat-Transaminase	GPT	(2.6.1. 2)

Enzym des Fettsäureabbaues:

23. Beta-Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase	HOADH	(1.1.1.35)
--	-------	------------

II. Methodik

1. Versuchsanordnungen

Als Versuchstiere dienten weibliche Wistarratten mit einem Ausgangsgewicht von 193 ± 7 g, die mit Leitungswasser und Altrominstandardkost ad libitum ernährt wurden.

32 Tiere wurden hypophysektomiert und davon 7 Tiere nach 8 Wochen untersucht. 25 Tieren wurden nach Ablauf von 4 Wochen täglich folgende Hypophysenhormondosen pro 100 g Rattengewicht intraperitoneal über 4 weitere Wochen verabreicht und dann untersucht:

11 Tieren 1 Einheit somatotropes Hormon (S T H)

9 Tieren 1 Einheit adrenocorticotropes Hormon (A C T H)

5 Tieren 1 Einheit gonadotropes Hormon (G T H)

14 Tiere dienten als Kontrolle.

Die Überprüfung auf Vollständigkeit der Hypophysektomie erfolgte durch Messung der Rattengewichte und der Plasma-cortisolspiegel.

Bei allen Tieren wurde die Resorptionsleistung eines 20 - 30 cm langen Jejunumabschnittes beginnend ca. 10 cm unterhalb des Treitz'schen Bandes mit Hilfe einer modifizierten in-vivo-Perfusionstechnik nach Sheff und Smyth gemessen (41).

Nach Beendigung der Perfusion über 70 Minuten wurden die Tiere getötet, der perfundierte Darmabschnitt entnommen und auf einer Korkplatte ausgebreitet. Die Mukosa wurde mit einem Deckglas abgeschabt, auf Korkscheibchen gelagert und nach Gefrierstopp in flüssigem Stickstoff in luftdichten Plastiksäckchen verpackt bis zur weiteren Verarbeitung bei -80° Celsius aufbewahrt.

Die Ratten wurden von Herrn Prof. Dr. A. Uhlarik hypophysektomiert und alle anderen oben angegebenen Arbeiten von Herrn Dr. H. Menge und Herrn K. Warm ausgeführt.

2. Herstellung der Homogenate und Extrakte

Die Gewebeproben wurden nach dem Auftauen in eiskaltem 0,1 M Phosphat - 2 mM EDTA - Puffer, pH 7,2, suspendiert (2,5 %-ige Suspensionen) und anschließend in einem Eisbad 3 x 30 Sekunden lang mit dem Ultraturrax (Fa. Janke und Kunkel) behandelt; zwischen den Behandlungen lagen jeweils 30 Sekunden Pause, um eine zu starke Temperatursteigerung zu vermeiden.

Die Protein- und D N S - Konzentrationen wurden in diesen Homogenaten gemessen.

Die Stromata der verbleibenden Homogenate wurden im Anschluß daran durch 60-minütiges Zentrifugieren bei 35 000 g in der Sorvall-Kühlzentrifuge bei 4° Celsius sedimentiert.

Die Aktivitäten der löslichen Enzyme wurden in den klaren Überständen gemessen.

Die Sedimente wurden mit dem Potter-Homogenisator in 0,1 M Phosphat-2mM EDTA - Puffer pH 7,2 zu 2,5 %-igen Suspensionen rehomogenisiert und damit die Aktivitäten der strukturgebundenen Enzyme GP-Ox und Succ-Ox gemessen.

Gewebe, Homogenate und Extrakte wurden stets in Eisbädern bearbeitet und aufbewahrt.

3. Proteinbestimmung im Homogenat nach der Biuret-Methode

a) Herstellung der Biuret-Protein-Lösungen:

Fällung des Eiweißes von 1 ml 1:5 verdünntem Homogenat mit 1 ml 50 %-iger TCA. Kurzes Abzentrifugieren nach einer Einwirkzeit der TCA von 10 Minuten. Verwerfen des Überstandes. Zum Sediment wurden 2,5 ml Biuret-Reagenz hinzugefügt und diese Suspension 30 Minuten lang gerührt. Verdünnung der Lösung mit 2,5 ml Aqua Bidest und weiteres Rühren über 10 Minuten.

b) Messungen:

Die Extinktionswerte wurden am Photometer "Eppendorf" der Firma Netheler und Hinz, Hamburg, in 2 cm Glasküvetten bei einer Wellenlänge von 546 nm gemessen. Dabei wurden die Extinktionswerte der Proben und des Leerwertes (2,5 ml Biuret-reagenz plus 2,5 ml Aqua Bidest) mit den Werten nach Lösung des Biuret-Protein-Komplexes mit einer Spatelspitze KCN verglichen.

c) Gebrauchte Lösungen: (Biuret-Reagenz)

Wässrige Lösung von 200 mM NaOH, 43 mM KNa-Tatrat, 19 mM CuSO_4 und 30 mM KJ.

d) Berechnung des Protein-Gehaltes der Gewebeproben:

$$\text{mg Protein/g frisch} = (E_P \text{ ohne KCN} - E_P \text{ mit KCN}) \\ \text{minus } (E_L \text{ ohne KCN} - E_L \text{ mit KCN}) \times 8,75 \times 5 \times F$$

E = Extinktion

P = Probe

L = Leerwert

F = Verdünnungsfaktor

Verdünnungsfaktor bei 2,5 %-igem Homogenat = 40

4. DNS-Bestimmung im Homogenat

a) Herstellung eines lagerungsbeständigen Extraktes:

2,5 ml 10 %-ige TCA zu 1 ml Homogenat. Danach 10-minütiges Abzentrifugieren in der Servall-Kühlzentrifuge bei 4°C mit 6000 g. Extraktion der DNS aus dem Sediment durch Erhitzen mit 2,5 ml 0,5 n Perchlorsäure im Wasserbad mit 70°C über 15 Minuten und wiederholtes Umrühren. Erneutes Abzentrifugieren der unlöslichen Bestandteile und Wiederholung desselben Verfahrens mit dem Sediment. Die beiden Überstände wurden zusammengossen und bis zur endgültigen Messung aller DNS-Werte bei 20°C aufbewahrt.

b) Messung der DNS-Gehalte:

2 ml Diphenylreagenz zu 1 ml DNS-Extrakt. Inkubation bei 30°C über 20 Stunden. Messung der Extinktionswerte bei 600 nm in 1 cm Spalküvetten mit dem Spektralphotometer PMQ II der Firma Carl Zeiss gegen den Leerwert (1 ml 0,5 n Perchlorsäure plus 2 ml Diphenylreagenz).

c) Gebrauchte Lösungen:

a) DNS-Stammlösung (lagerungsfähig) : 1,5 g Diphenylamin gelöst in 100 ml Eisessig; dazu 1,5 ml konzentrierte H_2SO_4 .

b) DNS-Reagenz: Zu 100 ml DNS-Stammlösung 0,5 ml 1,6 %-ige Acetaldehydlösung.

d) Berechnung des DNS-Gehaltes der Gewebeproben:

$\text{Gamma DNS/g frisch} = \text{Extinktion} \times 45 \times 5 \times F$

$F = \text{Verdünnungsfaktor}$

Verdünnungsfaktor bei 2,5 %-igem Homogenat = 40

5. Enzymbestimmungen

a) Messungen:

Die Messungen der Enzymaktivitäten erfolgten bei 25°C in 1 cm Spalkküvetten mit dem Photometer "Eppendorf" der Firma Netheler und Hinz, Hamburg-Eppendorf, mit automatischer Registrierung über einen Schreiber der Firma Philips mit Zusatzge-triebe und eine Transformationsbrücke der Firma Netheler und Hinz, Typ "Eppendorf". Dabei wurden die Aktivitäten der löslichen Enzyme in den Extrak-ten bei einer Wellenlänge von 366 nm, die der strukturgebundenen Enzyme Succ-Ox und GP-Ox in den rehomogenisierten Sedimenten bei 546 nm gemessen. Zum Pipettieren wurde neben Glasgeräten die auto-matische Pipette Typ "Marburg" der Firma Netheler und Hinz verwendet.

b) Testzusammensetzungen:

Die Enzymaktivitäten wurden nach den von Bücher, Luh und Pette beschriebenen (5a) optischen Tests gemessen. Wegen einzelner Abweichungen in den Testzusammensetzungen werden diese unten noch ein-mal aufgeführt. Die verwendeten Hilfsenzyme wurden jeweils in optimaler Konzentration dazugegeben. Die Nummerierung entspricht der in Tab. 1 angege-benen Reihenfolge.

1. Hexokinase (HK)

TRAP	50 mM
EDTA	5 mM
MgSO ₄	8 mM
NADP	0,4 mM
ATP	2 mM
Glucose	1 mM
G-6-PDH	
Extrakt	

Vorstart mit Glucose zur Ermittlung des durch G-6-PDH-Verunreinigungen bedingten Verlaufes.

Start mit Extrakt. pH 7,6

2. Fruktose-6-phosphat-Kinase (F-6-PK)

TRAP	50 mM
EDTA	5 mM
MgSO ₄	8 mM
NADH	0,15 mM
ATP	2 mM
F-6-P	1,6 mM
ALD	
GDH	

TIM

Extrakt

Start mit Extrakt. pH 7,6

3. Fruktose-di-Phosphatase (FDP)

TRAP	50 mM
EDTA	5 mM
MgSO ₄	8 mM
NADP	0,4 mM
Cystein	5 mM
FDP	0,2 mM
PGI	
G-6-PDH	
Extrakt	

Start mit FDP. pH 7,6

4. Fruktose-1,6-diphosphat-Aldolase (ALD)

TRAP	50 mM
EDTA	5 mM
NADH	0,15 mM
FDP	4 mM
TIM	
GDH	

Extrakt

Start mit FDP. pH 7,6

5. Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase (GAPDH)

TRAP	50 mM
EDTA	5 mM
NADH	0,15 mM
ATP	2 mM
GSH	2,4 mM
MgSO ₄	3,3 mM
3-PGS	7 mM
PGK	
Extrakt	
Start mit 3-PGS. pH 7,6	

6. 3-Phosphoglycerat-Kinase (PGK)

TRAP	50 mM
EDTA	5 mM
NADH	0,15 mM
ATP	1,5 mM
GSH	2,4 mM
MgSO ₄	6,6 mM
3-PGS	14 mM
GAPDH	
Extrakt	
Start mit Extrakt. pH 7,6	

7. Enolase (EN)

TRAP	50 mM
EDTA	5 mM
MgSO ₄	8 mM
KCl	75 mM
NADH	0,15 mM
ADP	1 mM
2-PGS	0,8 mM
PK	
LDH	
Extrakt	
Start mit 2-PGS, pH 7,6	

8. Phosphoenolpyruvat-Kinase (PK)

TRAP	50 mM
EDTA	5 mM
MgSO ₄	8 mM
KCl	75 mM
NADH	0,15 mM
ADP	2 mM
PEP	0,8 mM
LDH	
Extrakt	
Start mit PEP, pH 7,6	

9. Laktatdehydrogenase (LDH)

TRAP	50 mM
EDTA	5 mM
NADH	0,25 mM
Pyruvat	2,4 mM
Extrakt	
Start mit Extrakt, pH 7,6	

10. Glycerin-1-phosphat-Dehydrogenase (GDH)

TRAP	50 mM
EDTA	5 mM
NADH	0,15 mM
DAP	0,8 mM
Extrakt	
Start mit DAP, pH 7,6	

11. Glycerin-1-phosphat-Oxydase (GP-Ox)

K-Phosphat 100 mM
EDTA 5 mM
KCN 1 mM
Cytochrom C 0,052 %
Alpha-GP 20 mM
MgSO₄ 8 mM

Sedimentextrakt

Start mit Sedimentextrakt, pH 7,4

12. Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G-6-PDH)

TRAP 50 mM
EDTA 5 mM
NADP 0,4 mM
G-6-P 4 mM

Extrakt

Start mit Extrakt, pH 7,6

13. 6-Phosphoglucenat-Dehydrogenase (6-PGDH)

TRAP 50 mM
EDTA 5 mM
MgSO₄ 8 mM
NADP 0,4 mM
6-PGS 1 mM

Extrakt

Start mit 6-PGS.
pH 7,6

14. Malic-Enzyme (ME)

TRAP 50 mM
EDTA 5 mM
MgSO₄ 8 mM
NADP 0,4 mM
l-Malat 2 mM

Extrakt

Start mit l-Malat. pH 7,6

15. Condensing-Enzyme (CE)

TRIS 20 mM
EDTA 5 mM
NAD 4 mM
Malat 32 mM
Acetyl-CoA 0,15 mM
MDH

Extrakt

Start mit Acetyl-CoA.
pH 8,0

16. Isocitrat-Dehydrogenase, TPN-spez. (T-IDH)

TRAP 50 mM
EDTA 5 mM
MgSO₄ 8 mM
NADP 0,4 mM
d-l-Isocitrat 1,6 mM

Extrakt

Start mit Extrakt, pH 7,6

17. Isocitrat-Dehydrogenase
(DPN-Spez.) (D-IDH)

K-H₂-Phosphat
K₂-H-Phosphat 100 mM
MgCl₂ 8 mM
NAD 2 mM
ADP 2 mM
d-l-Isocitrat 1,6 mM
Extrakt
Start mit d-l-Isocitrat.
pH 7,6

18. Succinat-Dehydrogenase
(Succ-Ox)

K-H₂-Phosphat
K₂-H-Phosphat 100 mM
EDTA 5 mM
KCN 1 mM
Cytochrom C 0,1 %
Succinat 40 mM
Sedimentextrakt
Start mit Sediment-
extrakt. pH 7,4

19. Malat-Dehydrogenase
(MDH)

TRAP 50 mM
EDTA 5 mM
NADH 0,30 mM
OAA 0,2 mM
Extrakt
Start mit OAA. pH 7,6

20. Glutamat-Dehydrogenase
(GluDH)

TRAP 50 mM
EDTA 5 mM
NADH 0,15 mM
(NH₄)₂SO₄ 40 mM
Alpha-KG 4 mM
Extrakt
Start mit Alpha-KG.
pH 7,6

21. Glutamat-Oxalacetat-
Transaminase (GOT)

KH₂-Phosphat
K₂H-Phosphat 100 mM
EDTA 5 mM
NADH 0,15 mM
Alpha-KG 5 mM
l-Aspartat 60 mM
MDH
Start mit l-Aspartat.
pH 7,3

22. Glutamat-Pyruvat-Trans-
aminase (GPT)

KH₂-Phosphat
K₂H-Phosphat 100 mM
EDTA 5 mM
NADH 0,15 mM
Alpha-KG 8 mM
d-l-Alanin 64 mM
LDH
Extrakt
Start mit d-l-Alanin.
pH 7,3

23. Beta-Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase (HOADH)

TRAP 80 mM

NADH 0,25 mM

A-A-CoA 280 mM

Extrakt

Start mit A-A-CoA. pH 7,0

c) Berechnung der Enzymaktivitäten:

$$\frac{\text{Mikro-Mol}}{\text{min}} / \text{g frisch} = \frac{\text{Delta-E/min} \times V_{\text{gesamt}}}{3,3 \times V_{\text{Extrakt}} \times F}$$

$$\frac{\text{Mikro-Mol}}{\text{min}} / \text{mg Protein} = \frac{\text{Aktivität} / \text{g frisch}}{\text{mg Protein} / \text{g frisch}}$$

$$\frac{\text{Mikro-Mol}}{\text{min}} / \text{Gamma DNS} = \frac{\text{Aktivität} / \text{g frisch}}{\text{Gamma DNS} / \text{g frisch}}$$

E = Extinktion

V = Volumen

F = Verdünnungsfaktor

Verdünnungsfaktor bei 2,5 %-igem Homogenat = 40

6. Cortisolbestimmung im Plasma

Die Plasmacortisolspiegel wurden von Herrn Prof. Dr. Gerdes nach der von ihm beschriebenen Methode (15) fluorometrisch bestimmt.

7. Verzeichnis der gebrauchten Abkürzungen

Die Abkürzungen der von uns gemessenen Enzyme sind in Tab. 1 angegeben. Die bei den Messungen verwendeten Hilfsenzyme waren Erzeugnisse der Fa. C.F. Boehringer & Söhne, Mannheim.

a) Verwendete Substrate und Coenzyme:

(Firmennamen in Klammern)

A-A-CoA	Aceto-Acetyl-Coenzym-A (Boe)
A-CoA	Acetyl-Coenzym-A (Boe)
ADP	Adenosin-5-Diphosphat (Boe)
ATP	Adenosin-5-Triphosphat (Boe)
l-Alanin	d,l-Alanin (Boe)
Aspartat	l(+)-Asparaginsäure (Boe)
Cystein	l-Cysteinhydrochlorid (Rie)
DAP	Dihydroxyacetonphosphat (Boe)
Cytochrom C	(Boe)
FDP	Fruktose-1,6-Diphosphat (Boe)
F-6-P	Fruktose-6-Phosphat (Boe)
Glucose	Glucose (Me)
G-6-P	Glucose-6-Phosphat (Boe)
GSH	Glutathion (reduziert) (Boe)
Alpha-GP	Glycerophosphat (Boe)
Isocitrat	d,l-Isocitrat (Sigma/USA)
Alpha-KG	Alpha-Ketoglutarat (Boe)
Malat	l-Malat (Boe)
NAD	Beta-Nicotinamid-adenin-dinucleotid (Boe)

NADH	Beta-Nicotinamid-adenin-dinucleotid, red. (Boe)
NADP	Nicotinamid-adenin-dinucleotidphosphat (Boe)
OAA	Oxalacetat (Boe)
PEP	Phosphoenolpyruvat (Boe)
2-PGS	2-Phosphoglycerat (Boe)
3-PGS	3-Phosphoglycerat (Boe)
6-PGS	6-Phosphoglycerat (Boe)
Pyruvat	(Boe)
Succinat	Na-Succinat (Boe)

Rie	=	Fa. Riedel de Haen
Me	=	Fa. Merck A.G. Darmstadt
Boe	=	Fa. Boehringer & Söhne, Mannheim

b) Verwendete Chemikalien:

CuSO_4	(Me)	KNa-Tatrat	(Me)
H_2SO_4	(Me)	MgCl_2	(Me)
KCl	(Me)	MgSO_4	(Me)
KCN	(Rie)	NaOH	(Me)
KJ	(Me)	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	(Rie)

c) Puffersubstanzen:

EDTA	Athylendiamintetraacetat	(Me)
KH_2PO_4	(Me)	
K_2HPO_4	(Me)	
TRAP	Triäthanolamin	(Me)
TRIS	Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan	(Me)

d) Sonstiges:

Acetaldehyd	(Me)
Diphenylamin	(Me)
Eisessig	(Me)
PCA	Perchlorsäure (Me)
TCA	Trichloressigsäure (Me)

8. Mathematischer Anhang

Die Berechnungen der Mittelwerte und Standardabweichungen sowie die Signifikanzprüfungen wurden mit dem Computer Olivette Programm 101 durchgeführt.

a) Berechnung des Mittelwertes:

$$\bar{x} = \frac{\sum x'}{N}$$

b) Ermittlung der Standardabweichung:

$$s_1 = \sqrt{\frac{\sum d x'^2}{N (N - 1)}}$$

c) Signifikanzprüfung zweier Durchschnitte:

Die t-Verteilung (Studenttest) (37a) wurde mit dem Computer Olivette Programm 101 ermittelt und der Signifikanzfaktor p in einer Tabelle (11) nach der Anzahl der Freiheitsgrade abgelesen. In dieser Arbeit sind alle ermittelten Signifikanzfaktoren kleiner als die angegebenen p-Werte.

III. E r g e b n i s s e

1. Überprüfung des Hypophysektomieerfolges

Die Versuchstiere wurden transpalatinal teils unter Sicht, teils blind hypophysektomiert. Insbesondere bei Anwendung der Blindmethode mußte mit zurückgebliebenen Hypophysenresten gerechnet werden. Die Rattengewichte und die Plasmacortisolspiegel dienten als Erfolgskontrolle. Versager wurden von den Versuchen ausgeschlossen.

a) Rattengewichte:

Ausgangsgewichte:	193 ± 7 g
Endgewichte nach 8 Wochen:	
hypophysektomierte Ratten	156 ± 3,7 g
hypophysektomierte Ratten nach <u>S T H</u> Substitution	170 ± 5,8 g
hypophysektomierte Ratten nach <u>A C T H</u> Substitution	140 ± 4 g
hypophysektomierte Ratten nach <u>G T H</u> Substitution	147 ± 1,7 g
Kontrolltiere	251 ± 4,5 g

b) Plasmocortisolspiegel:

Die Cortisolspiegel lagen in der Kontrollgruppe zwischen 40 und 70 Mikro-g%, bei den hypophysektomierten und substituierten Tieren bei 6,3 ± 3,3 Mikro-g%.

- . Die hier angegebenen Ergebnisse wurden mir freundlicherweise von Herrn Prof. Dr. H. Gerdes, Herrn Dr. H. Menge und Herrn K. Warm zur Verfügung gestellt.

2. Proteinkonzentrationen

In Tab. 2 sind die Proteinkonzentrationen der Dünndarmmukosa bezogen auf das Frischgewicht zusammengefaßt. Durch die Hypophysektomie kommt es zu einem Abfall des Proteingehaltes um mehr als 30 %. Die STH-Substitution führt zu einem vollständigen Ausgleich des Hypophysektomieeffektes. Dagegen zeigt ACTH nur einen geringen und GTH gar keinen Einfluß auf den Proteingehalt der Dünndarmmukosa nach Hypophysektomie.

Tabelle 2:

Proteinkonzentrationen in der Dünndarmmukosa der Ratte. P_1 berechnet gegen Kontrollkollektiv, P_2 berechnet gegen hypophysektomiertes Kollektiv.

	<u>mg Protein</u> <u>g frisch</u>	s	P_1	P_2	Zahl d. Unters.
Kontrollratten	53,0	14,0			14
hypophysektomierte Ratten	35,3	5,3	0,0005		7
hypophysektomierte Ratten nach <u>S T H</u> Substitution	53,5	7,4	n s	0,0005	10
hypophysektomierte Ratten nach <u>A C T H</u> Substitution	43,7	7,9	0,05	0,0125	9
hypophysektomierte Ratten nach <u>G T H</u> Substitution	32,3	7,6	0,0005	n s	5

3. D N S - Konzentrationen

Tab. 3 gibt einen Überblick über die gemessenen DNS-Werte. Im Gegensatz zum Eiweißgehalt der Mukosa wird die DNS-Konzentration nur geringfügig durch die Hypophysektomie bzw. Substitution nach Hypophysektomie beeinflusst; so lag der DNS-Gehalt des Frischgewebes nach STH-Gabe bei Hypophysektomie etwas höher.

In der rechten Spalte wird die DNS als Bezugsgröße für den Proteingehalt eingesetzt. Aus der Gegenüberstellung geht deutlich hervor, daß keines der substituierten Hormone zu einer vollständigen Normalisierung der Proteinverteilung führt. Selbst der Wert nach STH-Substitution liegt unter dem des Kontrollkollektivs.

4. Enzymaktivitätsmuster

a) Das normale Enzymmuster:

Tab. 4 enthält die gemessenen Enzymaktivitäten in der Dünndarmmukosa normaler Ratten mit den dazugehörigen Standardabweichungen. Als Bezugsgrößen dienen das Frischgewicht, der Protein- und der DNS-Gehalt der Mukosa.

Bezogen auf das Frischgewicht liegen die Mittelwerte zwischen 10^2 und 4×10^5 mU/g frisch, wobei sich die Mehrzahl zwischen 2×10^3 und 6×10^4 mU/g frisch einordnet.

Tabelle 3:

DNS-Konzentrationen in Gamma DNS und Protein-DNS-Relation in der Dünndarmmukosa der Ratte. P_1 berechnet gegen Kontrollkollektiv, P_2 berechnet gegen hypophysektomiertes Kollektiv.

	<u>Gamma DNS</u> <u>g frisch</u>	s	P_1	P_2	<u>mg Protein</u> <u>mg DNS</u>	s	P_1	P_2	Zahl d. Unters.
Kontrollratten	1302	303		n s	41,8	12,2	-	0,0025	14
hypophysektomierte Ratten	1369	319	n s		26,8	6,2	0,0025	-	7
hypophysektomierte Ratten nach <u>S T H</u> Substitution	1608	343	0,025	n s	32,7	7,2	0,025	0,05	11
hypophysektomierte Ratten nach <u>A C T H</u> Substitution	1539	345	n s	n s	29,3	6,9	0,005	n s	9
hypophysektomierte Ratten nach <u>G T H</u> Substitution	1256	525	n s	n s	29,4	12,7	0,05	n s	5

Tabelle 4:

Enzymaktivitäten in der Dünndarmmukosa der Kontrollratten.

P = Protein

Namen der Enzyme	Aktivität- ten in mU/g frisch	s	Aktivität- ten in mU/10 mg P	s	Aktivität- ten in mU/mg DNS	s	Zahl der Untersu- chungen
GLUDH	6210	2780	1480	517	5416	663	5
GOT	9000	2400	1800	410	6890	1514	12
GPT	6400	2200	1280	380	4955	1718	12
HK	352	135	69	28	279	113	14
F6PK	7960	1900	1530	320	6240	1637	10
ALD	6400	2100	1320	140	5118	1479	8
GAPDH	37000	8000	6720	1460	26850	7048	10
PGK	55100	16900	10890	2430	42683	12239	12
EN	11030	3870	2130	630	8883	4177	14
PK	15720	6790	2960	730	12070	5077	14
LDH	265000	108000	57690	12450	212000	70989	8
G6PDH	2780	620	570	140	2158	506	12
6PGDH	2050	470	413	89	1572	256	12

Tabelle 4: (Forts.)

Enzymaktivitäten in der Dünndarmmukosa der Kontrollratten.

P = Protein

Namen der Enzyme	Aktivität in mU/g frisch	s	Aktivität in mU/10 mg P	s	Aktivität in mU/mg DNS	s	Zahl der Untersu- chungen
GDH	10700	2700	2120	550	8812	3312	12
GP-Ox	130	70	25	12	95	42	11
FDP	240	60	49	23	198	91	14
NE	550	160	111	32	414	113	12
CE	7800	1900	1570	390	5990	1351	12
D-LDH	320	160	56	26	235	113	11
T-IDH	6000	1100	1230	310	4668	908	12
Succ-Ox	530	180	108	39	404	108	12
MDH	383000	112000	74740	11490	300875	77403	12
HOADH	11000	3200	2220	560	8592	2402	12

Abb. 2:

Enzymaktivitäten in der Dünndarmmukosa normaler Ratten.
Einheiten: mU/mg D N S

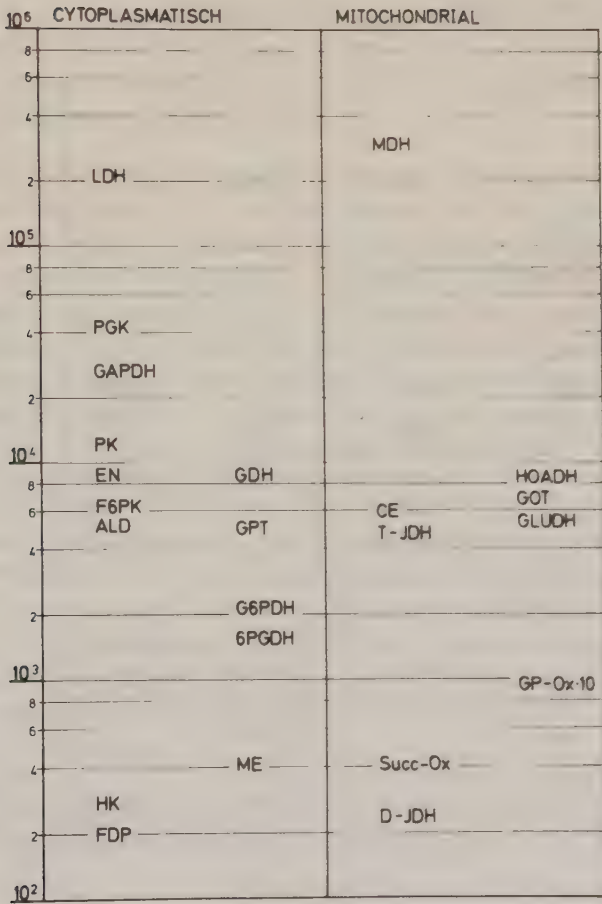
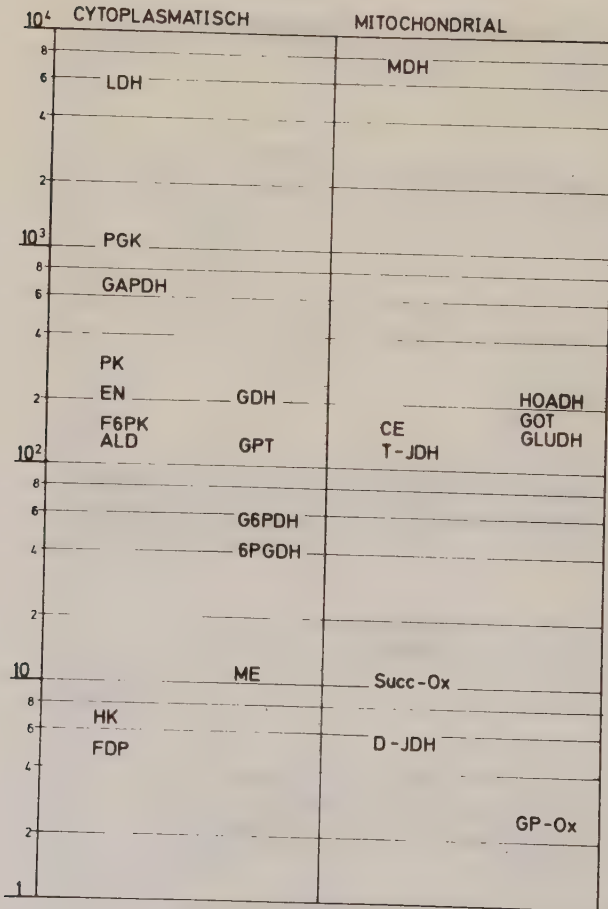


Abb.3 :

Enzymaktivitäten in der Dünndarmmukosa normaler Ratten.
Einheiten: mU/mg Protein



Die Betrachtung einzelner Enzyme, ihrer quantitativen Beziehungen und der Vergleich verschiedener Stoffwechselwege wird durch Eintragung der Enzymaktivitäten in ein logarithmisches System erleichtert. Es entstehen charakteristische Enzymaktivitätsmuster, die den Organisationsplan des Stoffwechsels wiedergeben (43). In den Abbildungen 2 bis 5 sind links die cytoplasmatischen (Typ I) und rechts die mitochondrialen (Typ II) und mitochondrial orientierten zweiörtigen (Typ III) Enzyme aufgetragen. Die Enzymaktivitäten liegen in beiden Gruppen etwa in einem Größenordnungsbereich.

Die meisten cytoplasmatischen Enzyme gehören dem Embden-Meyerhof-Abbauweg an. Als Vertreter der "Phospho-Triose-Glycerat-Gruppe" (43) der Glykolyse wurden die Enzyme GAPDH, PGK und EN gemessen. In ihren quantitativen Beziehungen erfüllten sie die von Pette u.a. beschriebenen konstanten Proportionen bei relativ niedriger Aktivität der GAPDH. Auffallend niedrig liegt auch die Aktivität der Hexokinase. Die Laktatdehydrogenase zeigt dagegen eine hohe Aktivität. Der Pentose-Phosphat-Shunt wird durch die Enzyme G-6-PDH und 6-PGDH vertreten.

Bei den mitochondrialen und zweiörtigen Enzymen fallen die hohe MDH-Aktivität sowie die niedrigen Aktivitäten der GP-Ox, Succ-Ox und D-IDH auf. Besonders ungewöhnlich ist jedoch die Diskrepanz zwischen den Aktivitäten der Isocitratdehydrogenase zugunsten der NADP spezifischen T-IDH. Der Quotient T-IDH/D-IDH beträgt 18,75.

Die GluDH als Träger einer mitochondrialen "Speziefunktion" beim Abbau der Glutaminsäure (43) liegt in demselben Größenordnungsbereich wie die GOT.

b) Das Enzymmuster bei Hypophysektomie:

In Tab. 5 sind die Enzymaktivitäten der Dünndarmschleimhaut hypophysektomierter Ratten zusammengefaßt.

Durch Gegenüberstellung der Mittelwerte bei normalen und hypophysektomierten Ratten in einem logarithmischen System werden die Aktivitätsverschiebungen überschaubar. Aus Tab. 3 war bereits hervorgegangen, daß der DNS-Gehalt der Mukosa durch die Hypophysektomie nicht beeinflußt wird. Bei Bezug auf DNS- und Gewichtseinheiten können deshalb nur symmetrische Veränderungen erwartet werden. Aus diesem Grunde wird auf eine getrennte Darstellung in diesen Bezugssystemen verzichtet. Die Eiweißkonzentration der Mukosa war dagegen nach der Hypophysektomie deutlich abgefallen, und demzufolge ist auch ein andersartiges Verhalten der spezifischen Aktivität anzunehmen.

Abb. 4 zeigt die Aktivitätsverschiebungen bei Bezug auf DNS. Aus ihr geht deutlich hervor, daß die Ausstattung der Zellen mit mitochondrialen Enzymen in ihrem Verhalten von der Hypophysektomie praktisch unbeeinflusst bleibt. Eine Ausnahme macht die GP-Ox, die sich einer Gruppe zytoplasmatischer Enzyme zuordnet, und zwar der F-6-PK, GAPDH, PGK, EN, PK und LDH. Diese gehören alle der Glykolyse an und erfahren durch die Hypophysektomie eine Aktivitätsminderung um bis zu 40 %. Dagegen wird bei den Enzymen HK, G-6-PDH und ME durch das Fehlen der Hypophysenhormone eine signifikante Aktivitätssteigerung hervorgerufen.

Bei Bezug auf Protein-Einheiten (Abb.5) fällt eine deutliche Aktivitätssteigerung nach Hypophysektomie

Tabelle 5: Enzymaktivitäten in der Dünndarmmukosa hypophysektomierter Ratten.
p berechnet gegen Kontrollkollektiv; P = Protein

Namen der Enzyme	Aktivität- ten in mU/g fr.	s	P	Aktivität- ten in mU/10 mg P	s	P	Aktivität- ten in mU/mg DNS	s	P	Zahl der Unter- suchungen
GLUDH	5800	1100	n s	1820	270	n s	4537	1079	n s	3
GOT	9900	1100	n s	2900	510	0,0005	7440	1270	n s	7
GPT	6000	2100	n s	1670	460	0,05	4440	1510	n s	7
HK	470	60	0,01	142	190	0,0005	358	75	0,05	0
FoPK	5000	1700	0,0025	1480	540	n s	3620	557	0,0005	7
ALD	6200	1800	n s	1790	660	0,05	4600	1610	n s	7
GAPDH	23000	3000	0,0005	6330	530	n s	17100	2900	0,0025	7
PGA	31300	4500	0,0005	8910	1170	0,025	23900	6200	0,0005	7
EN	10100	2500	n s	2900	860	0,025	7650	2500	n s	7
PK	10400	2800	0,01	3060	1060	n s	7600	2590	0,0125	7
LDH	155000	41000	0,01	43810	3620	0,025	117000	36000	0,005	7
G6PDH	3900	700	0,0025	1130	290	0,0005	2940	640	0,01	7
6PGDH	1570	380	0,025	450	130	n s	1220	450	0,05	7
GDH	10300	2100	n s	2980	820	0,0125	7840	2390	n s	7
GP-Ox	67	22	0,005	19	3	n s	50	23	0,01	7
FDP	240	50	n s	70	17	0,025	188	62	n s	7
ME	920	240	0,0025	270	94	0,0005	702	258	0,01	7
CE	6700	1800	n s	1970	680	n s	5080	1500	n s	7
D-LDH	270	100	n s	77	26	n s	202	72	n s	7
T-LDH	6200	1200	n s	1780	420	0,005	4400	1200	n s	7
Succ-Ox	450	170	n s	120	61	n s	335	181	n s	7
MDH	310000	60000	0,05	86710	25440	n s	235000	66100	0,05	7
HOADH	11200	1600	n s	3180	350	0,0005	8400	1840	n s	7

Abb. 4:

Enzymaktivitäten in der Dünndarmmukosa normaler und hypophysektomierter Ratten.

Einheiten: mU / mg D N S

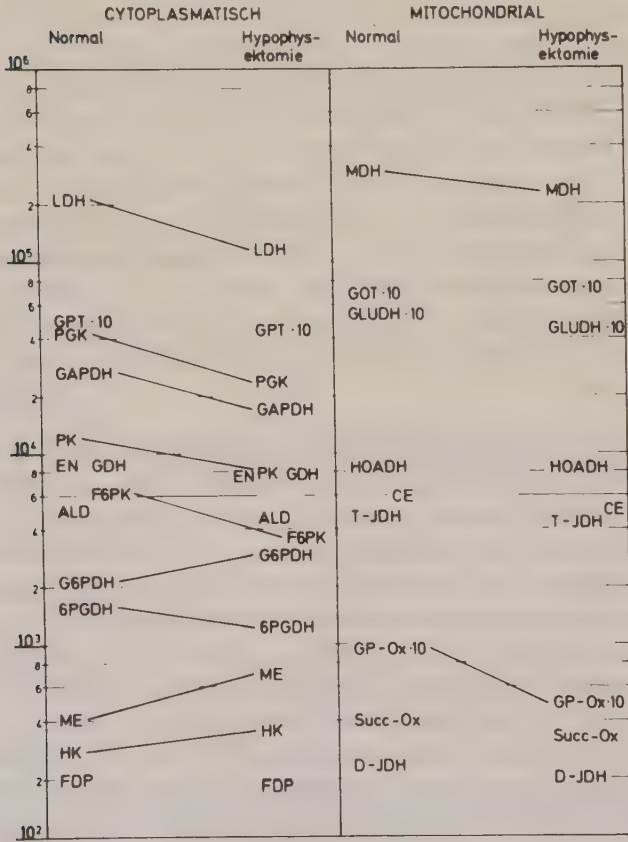
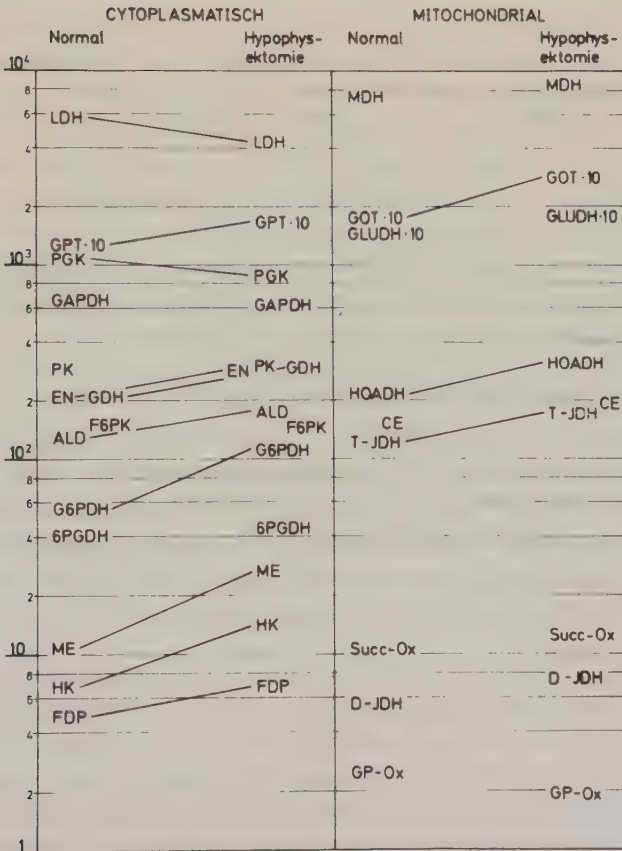


Abb. 5:

Enzymaktivitäten in der Dünndarmmukosa normaler und hypophysektomierter Ratten.

Einheiten: mU / mg Protein



auf. Dies entspricht der Abnahme der Eiweißkonzentration um etwa 35 % (Tab.2). Eine Ausnahme machen einige glykolytische Enzyme und die GP-Ox wodurch noch einmal die Sonderstellung dieses Systems angedeutet wird.

c) Das Enzymmuster bei Substitution

Durch die Substitution der Hypophysenhormone STH, ACTH und GTH bei hypophysektomierten Ratten sollte versucht werden, die Hypophysektomieeffekte zu analysieren.

Die Mittelwerte aller Enzymaktivitäten nach Substitution, ihre Standardabweichungen und die Ergebnisse der Signifikanzprüfungen können aus den Tabellen 6, 7 und 8 entnommen werden. In den Tabellen 9, 10 und 11 wurden die Mittelwerte der Enzymaktivitäten aller Versuchsserien in je einem Bezugssystem gegenübergestellt. Außerdem wurden in den Abbildungen 7 und 8 die Mittelwerte der Enzymaktivitäten in Prozent aufgetragen; als Ausgangswerte dienten dabei die Aktivitäten pro DNS- und Protein-Einheit bei normalen Ratten.

(1) Das Enzymmuster bei S T H - Substitution

Der Einfluß des somatotropen Hormones auf die DNS- und Protein-Verteilung in der Dünndarmmukosa war bereits anhand der Tab. 2 und 3 beschrieben worden; die DNS-Konzentration war leicht angestiegen, der Eiweißgehalt hatte sich normalen Werten angeglichen und die Protein/DNS-Relation zeigte Normalisierungstendenzen.

Aus Abb. 7 geht deutlich hervor, daß die Enzymaktivitäten bezogen auf DNS-Einheiten durch die exogene STH-Substitution nur geringfügig beeinflusst werden. Lediglich bei der HK, G-6-PDH und PGK kommt es zu einer Normalisierung mit überschießenden Reaktionen, und für die D-IDH wurde eine etwas niedrigere Aktivität gemessen. Bei Bezug auf Gewichtseinheiten treten entsprechende Verschiebungen auf.

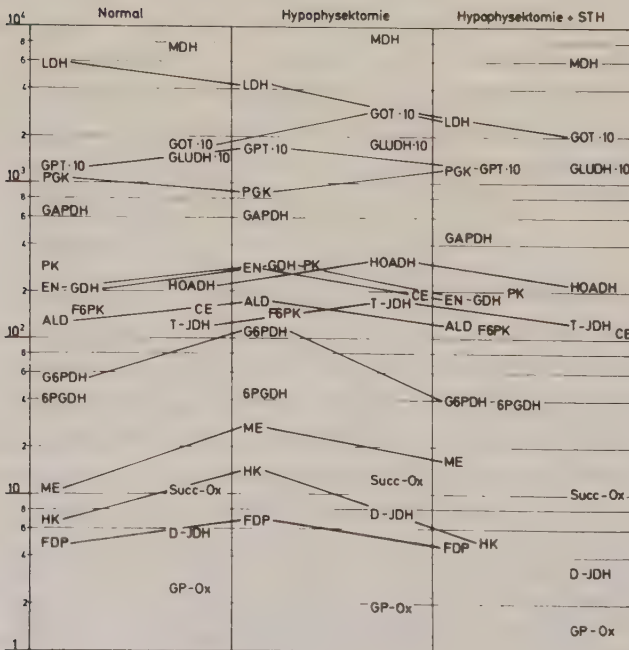
Tabelle 6: Enzymaktivitäten in der Dünndarmmukosa hypophysektomierter Ratten nach STH Substitution
P₁ berechnet gegen Kontrollkollektiv; P₂ berechnet gegen hypophysektomiertes Kollektiv.
P = Protein; x = eine Untersuchung weniger als angegeben.

Namen der Enzyme	Aktivität- ten in mU/g fr.	s	P ₁	P ₂	Aktivität- ten in mU/10 mg p	s	P ₁	P ₂	Aktivität- ten in mU/mg DNS	s	P ₁	P ₂	Zahl d. Unter- suchg.
GLUDH	6400	1400	n s	n s	1270	100	n s	0,05	3935	116	0,01	n s	2
GOT	10800	2100	0,05	n s	2060 ^x	270	0,05	0,0025	7057	2090	n s	n s	11
GPT	6800	2200	n s	n s	1290 ^x	370	n s	0,05	4550	1510	n s	n s	11
HK	280	50	0,05	0,0005	50 ^x	8	0,0125	0,0005	189	79	0,0125	0,0005	11
FOPK	6300	3300	n s	n s	1180	290	n s	n s	3770	1630	0,05	n s	2
ALD	6200	1700	n s	n s	1240 ^x	340	n s	0,05	3930	1210	0,05	n s	10
GAPDH	24000	6000	0,0005	n s	4540 ^x	1240	0,0025	0,0025	15300	4450	0,0005	n s	11
PGK	62100	5800	n s	0,0005	12180 ^x	1380	n s	0,0005	40200	11300	n s	0,0025	8
EN	9300	3900	n s	n s	1800 ^x	640	n s	0,01	5950	2220	0,025	n s	11
PK	9060	1890	0,0025	n s	2030 ^x	590	0,0025	0,025	5790	1360	0,0005	0,05	11
LDH	139000	17000	0,0025	n s	25720 ^x	2700	0,0005	0,0005	91000	29300	0,0005	n s	11
G6PDH	2290	610	0,05	0,0005	406 ^x	94	0,005	0,0005	1500	770	0,05	0,0025	9
6PGDH	2030	380	n s	0,025	392 ^x	52	n s	n s	1320	340	0,05	n s	9
GDH	9300	2400	n s	n s	1800 ^x	400	n s	0,005	6270	2100	0,05	n s	6
GP-Ox	71	21	0,01	n s	14 ^x	3	0,01	0,05	44	11	0,0025	n s	9
FDP	270	90	n s	n s	47 ^x	12	n s	0,005	184	118	n s	n s	11
ME	890	220	0,0005	n s	165 ^x	33	0,0005	0,01	584	213	0,025	n s	11
CE	6000	1400	0,01	n s	1140 ^x	240	0,005	0,005	3880	1110	0,0005	0,05	11
D-IDH	190	50	0,025	0,05	33	11	0,025	0,0025	119	46	0,005	0,0125	7
T-IDH	6700	1000	n s	n s	1280 ^x	190	n s	0,01	4440	1300	n s	n s	9
Succ-o-x	540	180	n s	n s	105 ^x	36	n s	n s	353	146	n s	n s	9
MDH	338000	57000	n s	n s	62530 ^x	6680	0,005	0,0125	223000	75800	0,0125	n s	11
HOADH	11800	2700	n s	n s	2230 ^x	370	n s	0,0005	7710	2470	n s	n s	11

Abb. 6:

Enzymaktivitäten in der Dünndarmmukosa normaler, hypophysektomierter und hypophysektomierter Ratten nach STH-Substitution

Einheiten: mU / mg Protein



Wie bei der Beschreibung der Hypophysektomieeffekte ist auch hier eine isolierte Betrachtung der spezifischen Aktivität nötig. Abb. 6 enthält eine Gegenüberstellung ihrer Mittelwerte bei normalen, hypophysektomierten und STH-substituierten Ratten in einem logarithmischen System. Offensichtlich wird die Steigerung der spezifischen Aktivität, die im Anschluß an die Hypophysektomie aufgetreten war, durch das somatotrope Hormon voll ausgeglichen. Vereinzelt kommt es zu überschießenden Reaktionen. Nach STH-Substitution liegen die spezifischen Aktivitäten aller Enzyme mit Ausnahme der PGK unter dem überhöhten Niveau bei hypophysektomierten Tieren.

(2) Das Enzymmuster bei A C T H - Substitution

Das adreno-corticotrope Hormon führt in den drei untersuchten Bezugssystemen nur zu unwesentlichen Aktivitätsverschiebungen. Ebenso wie bei der STH-Substitution bleiben die Aktivitäten bei Bezug auf DNS und Frischgewicht nahezu unverändert (Abb.7).

Die spezifische Aktivität zeigt bei den meisten Enzymen einen leichten Aktivitätsrückgang (Abb.8).

(3) Das Enzymmuster bei G T H - Substitution

Auch nach Substitution mit gonadotropem Hormon treten nur geringe Aktivitätsveränderungen auf. Zum Teil liegen sie leicht unter den Werten, die bei hypophysektomierten Tieren gemessen wurden. Signifikante Normalisierungsreaktionen treten nicht auf.

Tabelle 7: Enzymaktivitäten in der Dünndarmmukosa hypophysektomierter Ratten nach ACTH Substitution.
P₁ berechnet gegen Kontrollkollektiv; P₂ berechnet gegen hypophysektomiertes Kollektiv.
P = Protein

Namen der Enzyme	Aktivität- ten in mU/g fr.	s	P ₁	P ₂	Aktivität- ten in mU/10 mg P	s	P ₁	P ₂	Aktivität- ten in mU/mg DNS	s	P ₁	P ₂	Zahl d. Unter- suchg.
GLUDH	8200	1900	n s	0,025	1830	390	n s	n s	5258	911	n s	n s	4
GOT	11000	2400	0,05	n s	2420	360	0,0025	0,05	7403	2750	n s	n s	8
GPT	7200	2700	n s	n s	1580	460	n s	n s	4630	1540	n s	n s	2
HK	630	210	0,0025	0,05	140	45	0,0005	n s	402	107	0,01	n s	8
F6PK	6200	2500	n s	n s	1340	450	n s	n s	4160	2120	0,025	n s	8
ALD	7500	2100	n s	n s	1670	310	0,01	n s	5040	1860	n s	n s	8
GAPDH	27000	4000	0,005	n s	5930	1010	n s	n s	17580	4300	0,0025	n s	7
PGK	62700	16500	n s	0,0005	14320	2540	0,0005	0,0005	42130	15090	n s	0,005	8
EN	11500	4700	n s	n s	2590	850	n s	n s	6940	2950	n s	n s	9
PK	9500	3400	0,01	n s	2080	570	0,005	0,05	6300	3090	0,0025	n s	7
LDH	140000	29000	0,005	n s	31910	3880	0,0005	0,0025	93150	21990	0,0005	n s	9
G6PDH	3920	950	0,005	n s	860	150	0,0005	0,025	2570	755	n s	n s	8
6PGDH	1730	450	n s	n s	406	94	n s	n s	1130	315	0,0025	n s	8
GDH	9200	2600	n s	n s	2110	530	n s	0,025	6270	2380	0,05	n s	9
GP-Ox	100	47	n s	n s	22	10	n s	n s	70	50	n s	n s	8
FDP	330	60	n s	0,01	74	21	0,025	n s	238	62	n s	n s	6
ME	630	170	n s	0,01	144	37	0,025	0,0025	440	199	n s	0,025	9
CE	6400	1200	0,05	n s	1420	220	n s	0,05	4330	1680	0,025	n s	2
D-IDH	240	80	n s	n s	51	11	n s	0,025	178	31	n s	n s	4
T-IDH	7300	1300	0,025	n s	1640	240	0,0025	n s	4850	1560	n s	n s	8
Succ-Ox	560	110	n s	n s	129	39	n s	n s	378	136	n s	n s	8
MDH	333000	110000	n s	n s	75100	17600	n s	n s	229700	104430	n s	n s	9
HOADH	8800	2000	0,05	0,01	2020	400	n s	0,0005	6050	2330	0,0125	0,025	9

Tabelle 8: Enzymaktivitäten in der Dünndarmmukosa hypophysektomierter Ratten nach GTH Substitution.
P₁ berechnet gegen Kontrollkollektiv; P₂ berechnet gegen hypophysektomiertes Kollektiv.
P = Protein

Namen der Enzyme	Aktivität- ten in mU/g fr.	s	P ₁	P ₂	Aktivität- ten in mU/10 mg P	s	P ₁	P ₂	Aktivität- ten in mU/mg DNS	s	P ₁	P ₂	Zahl d. Unter- suchg.
GLUDH	6300	1900	n s	n s	1830	350	n s	n s	5490	3420	n s	n s	4
GOT	7200	2700	n s	0,05	2150	520	n s	0,025	5050	1170	0,0125	0,01	4
GPT	3300	700	0,0005	0,01	1030	140	0,05	0,005	3130	1760	0,05	n s	5
HK	550	200	n s	n s	148	44	0,005	n s	339	125	n s	n s	3
F6PK	3700	1100	0,0005	n s	1150	270	0,025	n s	2590	1350	0,0025	n s	4
ALD	5700	2700	n s	n s	1710	510	n s	n s	4620	1150	n s	n s	5
GAPDH	20000	7000	0,025	n s	6110	1040	n s	n s	17340	5920	0,01	n s	5
PGK	34400	14300	0,0125	n s	10800	4020	n s	n s	32780	18490	n s	n s	5
EN	9708	6320	n s	n s	2856	1444	n s	n s	7190	2920	n s	n s	5
PK	6218	2106	0,0005	0,01	1963	690	0,01	0,05	5174	1390	0,0005	0,025	5
LDH	88000	26000	0,0025	0,005	26340	3340	0,0005	0,0005	77040	25150	0,0005	0,025	5
G6PDH	2620	1170	n s	0,05	790	250	0,05	0,025	2180	885	n s	n s	5
6PGDH	1500	460	0,025	n s	458	70	n s	n s	1299	456	n s	n s	5
GDH	8200	2100	0,05	n s	2530	250	0,05	n s	6790	2430	n s	n s	5
GP-Ox	69	33	0,025	n s	20	6	n s	n s	48	18	0,005	n s	4
FDP	220	60	n s	n s	71	23	0,05	n s	215	147	n s	n s	5
ME	540	140	n s	0,005	168	43	0,01	0,025	485	252	n s	n s	5
CE	6000	1000	0,025	n s	1510	430	n s	n s	5235	3110	n s	n s	4
D-LDH	300	100	n s	n s	86	8	0,005	n s	190	73	n s	n s	3
T-LDH	5900	1800	n s	n s	1830	310	0,0025	n s	4960	1100	n s	n s	5
Succ-Ox	470	140	n s	n s	146	41	n s	n s	362	159	n s	n s	4
MDH	281000	82000	0,05	n s	85250	7850	n s	n s	204250	45890	0,005	n s	4
HOADH	7900	2400	0,025	0,025	2480	720	n s	0,05	6590	1115	0,025	0,05	5

Abb. 7:

Vergleich der Enzymaktivitäten des Normalkollektivs mit den Enzymaktivitäten der anderen Kollektive.

100 % entsprechen den Mittelwerten der Enzymaktivitäten in mU / mg D N S des Normalkollektivs.

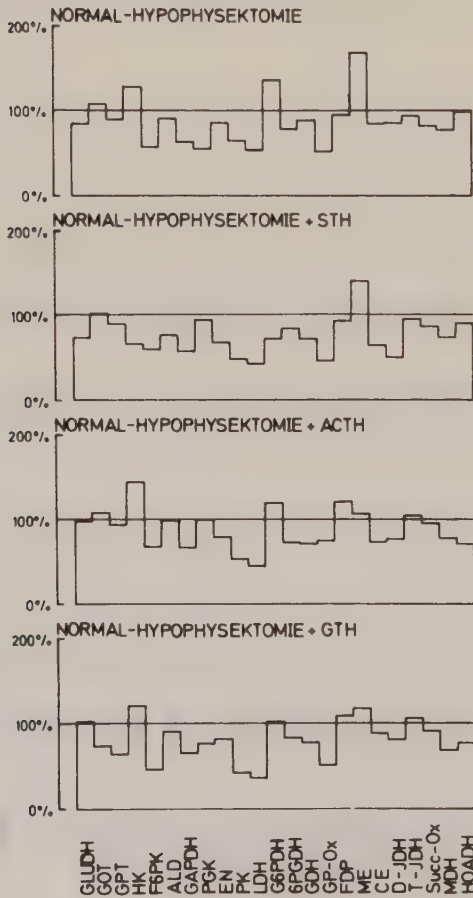


Abb. 8:

Vergleich der Enzymaktivitäten des Normalkollektives mit den Enzymaktivitäten der anderen Kollektive.

100 % entsprechen den Mittelwerten der Enzymaktivitäten in mU / mg Protein des Normalkollektives.

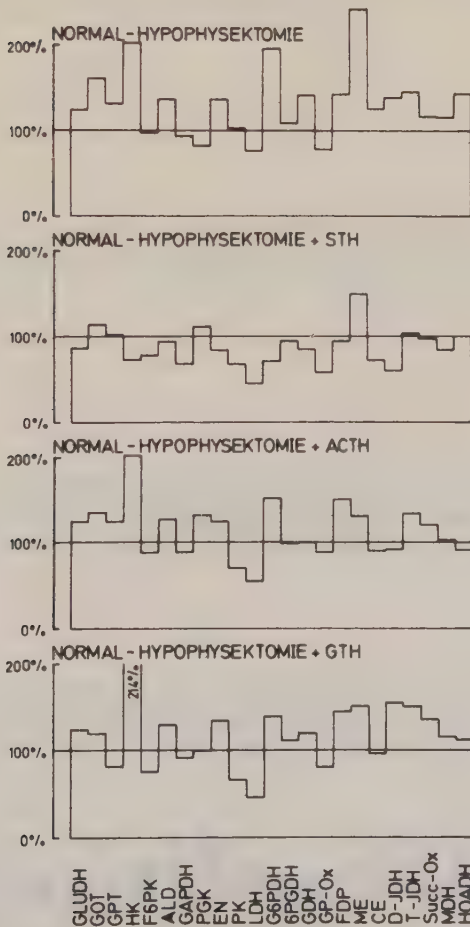


Tabelle 2: Mittelwerte der Enzymaktivitäten in der Dünndarmmukosa der Ratte aus allen Versuchsreihen bei Bezug auf Frischgewicht.
Einheiten: mU/g frisch

Namen der Enzyme	Normal	Hypophysektomie	Hypophysektomie und <u>STH</u> -Substi- tution	Hypophysektomie und <u>ACTH</u> -Substi- tution	Hypophysektomie und <u>GTH</u> -Substi- tution
GLUDH	6210	5800	6400	8200	6300
GOT	9000	9900	10800	11000	7200
GPT	6400	6000	6800	7200	3300
HK	352	470	280	630	550
F6PK	7960	5000	6300	6200	3700
ALD	6400	6200	6200	7500	5700
GAPDH	37000	23000	24000	27000	20000
PGK	55100	31300	62100	62700	34400
EN	11030	10100	9300	11500	9708
PK	15720	10400	9060	9500	6218
LDH	265000	155000	139000	140000	88000
G6PDH	2780	3900	2290	3920	2620
6PGDH	2050	1570	2030	1730	1500
GDH	10700	10300	9300	9200	8200
GP-Ox	130	67	71	100	69
FDP	240	240	270	330	220
ME	550	920	890	630	540
CE	7800	6700	6000	6400	6000
D-IDH	320	270	190	240	300
T-IDH	6000	6200	6700	730	5900
Succ-Ox	530	430	540	560	470
MDH	383000	310000	338000	333000	281000
HOADH	11000	11200	11800	8800	7900

Tabelle 10: Mittelwerte der Enzymaktivitäten in der Dünndarmmukosa der Ratte aus allen Versuchsreihen bei Bezug auf Protein.
Einheiten: mU/10 mg Protein

Namen der Enzyme	Normal	Hypophysektomie	Hypophysektomie und <u>STH</u> -Substi- tution	Hypophysektomie und <u>ACTH</u> -Substi- tution	Hypophysektomie und <u>GTH</u> -Substi- tution
GLUDH	1480	1820	1270	1830	1830
GOT	1800	2900	2060	2420	2150
GPT	1280	1670	1290	1580	1030
HK	69	142	50	140	148
F6PK	1530	1480	1180	1340	1150
ALD	1320	1790	1240	1670	1710
GAPDH	6720	6330	4540	5930	6110
PGK	10890	8910	12180	14320	10800
EN	2130	2900	1800	2590	2856
PK	2960	3060	2030	2080	1963
LDH	57690	43810	25730	31910	26340
G6PDH	570	1130	406	860	790
6PGDH	413	450	392	406	458
GDH	2120	2980	1800	2110	2530
GP-Ox	25	19	14	22	20
FDP	49	70	47	74	71
ME	111	270	165	144	168
CE	1570	1970	1140	1420	1510
D-IDH	56	77	33	51	86
T-IDH	1230	1780	1280	1640	1830
Succ-Ox	108	126	105	129	146
MDH	74740	86710	62530	75100	85250
HOADH	2220	3180	2230	2020	2480

Tabelle 11: Mittelwerte der Enzymaktivitäten in der Dünndarmmukosa der Ratte aus allen Versuchsreihen bei Bezug auf DNS
Einheiten: mU/mg DNS

Namen der Enzyme	Normal	Hypophysektomie	Hypophysektomie und STH-Substi- tution	Hypophysektomie und ACTH-Substi- tution	Hypophysektomie und GTH-Substi- tution
GLUDH	5416	4537	3935	5258	5490
GOT	6890	7440	7057	7403	5050
GPT	4955	4440	4550	4650	3130
HK	279	358	189	402	339
F6PK	6240	3030	3770	4160	2590
ALD	5118	4660	3930	5040	4620
GAPDH	26850	17100	15300	17500	17340
PGK	42683	23900	40200	42130	32780
EN	8883	7650	5950	6940	7190
PK	12070	7860	5790	6300	5174
LDH	212000	117000	91000	93150	77040
G6PDH	2158	2940	1560	2570	2180
GPGDH	1572	1220	1320	1130	1299
GDH	8812	7840	6270	6270	6790
GP-Ox	95	50	44	70	40
FDP	198	188	184	238	215
ME	414	702	584	440	485
CE	5990	5080	3880	4330	5235
D-IDH	235	202	119	173	190
T-IDH	4668	4400	4440	4850	4960
Succ-Ox	404	335	353	378	362
MDH	300875	235000	223000	229700	204250
HOADH	8592	8460	7710	6050	6590

5. Anhang

Im Rahmen der Voruntersuchungen wurde ein Teil der Bestimmungen bei normalen Ratten durchgeführt. Die Tiere waren etwas älter und hatten ein Gewicht von 298 ± 72 Gramm. Der gesamte Dünndarm wurde in Äthernarkose entnommen, halbiert und die obere Hälfte für die Gewebsgewinnung verwendet. Auf eine Perfusion wurde verzichtet und die Gewebe wurden sofort nach den bereits beschriebenen Methoden weiterverarbeitet.

Tabellen 12 a und 12 b enthalten eine Gegenüberstellung der Mittelwerte mit Standardabweichungen für den Proteingehalt, D N S -Gehalt und die Enzymaktivitäten mit und ohne Perfusion der untersuchten Darmabschnitte.

Trotz unterschiedlicher Präparationsmethoden besteht bei den meisten Enzymen eine gute Übereinstimmung. Nur die HK, HOADH und D-IDH weichen vom Gesamtbild ab, wobei der D-IDH-Abfall besonders auffällig ist. Nachträglich läßt sich nicht entscheiden, welche Faktoren für diese Aktivitätsverschiebungen verantwortlich sind.

Tabelle 12a: Proteingehalt, DNS-Gehalt und Enzymaktivitäten in der Dünndarmmukosa der Ratte mit und ohne Perfusion der untersuchten Darmabschnitte

Namen der Enzyme	Aktivitäten in mU/g frisch				Protein- gehalt in mg/g frisch:		DNS- gehalt in gamma/ g frisch		mit Perfusion n = 14		ohne Perfusion n = 12		mit Perfusion n = 14	
	ohne Perfusion	s	n	mit Perfusion	s	n	s	n	s	n	s	n	s	n
GLUDH	----	---	--	6210	2780	5			34,52	2,69	53,0	14,0		
GOT	5523	872	12	9000	2400	12								
GPT	4730	730	12	6400	2200	12								
HK	306	160	14	352	135	14								
F6PK	6450	1414	2	7960	1900	10								
ALD	4140	537	2	6400	2100	8								
GAPDH	20195	4298	12	37000	8000	10								
PGK	27785	4725	14	55100	16900	12								
EN	5202	1306	14	11030	3870	14								
PK	11178	2175	14	15720	6790	14								
LDH	112160	16890	14	265000	108000	8			720,6	76,3	1302	303		
G6PDH	1667	348	13	2780	620	12								
6PGDH	1132	163	14	2050	470	12								
GDH	5010	754	14	10700	2700	12								
GP-Ox	----	---	--	130	70	14								
FDP	166	98	11	240	60	14								
ME	387	66	15	550	160	12								
CE	4807	1016	15	7800	1900	12								
D-IDH	571	139	14	320	160	11								
T-IDH	3540	1316	15	6000	1100	12								
Succ-Ox	----	---	--	530	180	12								
MDH	250450	57330	14	383000	112000	12								
HCADH	12937	4867	14	11000	3200	12								

Tabelle 12b: Enzymaktivitäten in der Dünndarmmukosa der Ratte mit und ohne Perfusion der untersuchten Darmabschnitte

Namen der Enzyme	Aktivitäten in mU/10 mg Protein:				Aktivitäten in mU/mg DNS:			
	ohne Perfusion	s	n	mit Perfusion	ohne Perfusion	s	n	mit Perfusion
GLUDH	----	---	--	1480	----	---	5	5416
GOT	1543	245	9	1800	7729	1447	12	6890
GPT	1316	227	9	1280	6615	1131	12	4955
HK	92	44	11	69	452	270	12	279
F6PK	----	---	--	1530	9305	1053	2	6240
ALD	----	---	--	1320	6010	127	2	5118
GAPDH	5815	1097	10	6720	29180	7152	10	26850
PGK	7601	1015	11	10890	40381	7608	11	42683
EN	1423	285	11	2130	7166	2097	12	8883
PK	3234	577	11	2960	14859	2653	11	12070
LDH	32364	4793	11	57690	153120	24800	12	212000
G6PDH	457	82	10	570	2460	573	11	2158
6PGDH	314	41	11	413	1556	196	12	1572
GDH	1483	221	11	2120	6880	1185	11	8812
GP-Ox	----	---	--	25	----	---	--	95
FDP	42	14	8	49	192	58	11	198
ME	111	22	12	111	566	100	12	414
CE	1377	336	12	1570	6408	1348	12	5990
D-IDH	164	45	11	56	825	154	11	235
T-IDH	1064	404	12	1230	4976	1384	12	4668
Succ-Ox	----	---	--	108	----	---	--	404
MDH	68364	14071	11	74740	384000	79680	9	300875
HOADH	3135	791	11	2220	19745	7303	11	8592

IV. Diskussion

Die Dünndarmschleimhaut ist ein inhomogenes Gewebe aus Anteilen unterschiedlicher Stoffwechselaktivität.

Die von uns untersuchten Gewebeproben enthielten neben hochaktiven epithelialen Zellen auch bradytrophes Schleimhautstroma. Bezüglich der Aktivitäten der Energiestoffwechselenzyme dürfte dieses jedoch nur untergeordnete Bedeutung haben. Trotzdem muß man sich bei der Beurteilung der Untersuchungsergebnisse ständig darüber im klaren sein, daß endgültige Aussagen über die Vorgänge in der Dünndarmschleimhaut nur in Verbindung mit histochemischen und funktionellen Untersuchungen möglich sind.

1. Das normale Enzymmuster

In mehreren Arbeiten wurden bereits Energiestoffwechselenzyme in der Dünndarmschleimhaut nachgewiesen. Dabei handelt es sich jedoch immer nur um Untersuchungen weniger Enzyme oder einzelner Stoffwechselwege. In der vorliegenden Arbeit wurden erstmalig die Aktivitäten von 23 Energiestoffwechselenzymen aus verschiedenen Stoffwechselwegen systematisch gemessen. Es ergibt sich daraus eine bessere Vergleichsmöglichkeit mit den Untersuchungsergebnissen anderer Gewebe und erlaubt die Beurteilung der quantitativen Beziehungen zwischen den einzelnen Stoffwechselabschnitten nach den von Pette (43) beschriebenen Prinzipien.

Ein Vergleich mit den Ergebnissen anderer Autoren (Tab.13) zeigt eine gute Übereinstimmung bei den meisten Enzymen. Nur für die Hexokinase wurde von uns eine erheblich niedrigere Aktivität gemessen.

Tabelle 13:

Vergleich der eigenen Ergebnisse mit denen anderer Autoren.

Aktivitätsangaben in mU/mg Protein
und mU/g Frischgewicht^x

	diese Arbeit	andere Autoren	
HK	6,9	37,3	(56)
		21,6	(57)
F-6-PK	153	159	(24)
G-6-PDH	57	75,7	(53)
		74,7	(54)
		49,4	(57)
	2780 ^x	2120 ^x	(2)
6-PGDH	41,3	68,9	(53)
		69	(54)
		65,2	(57)
Succ-Ox	10,8	12,8	(53)
GludH	148	113,5	(25)
PK	296	607	(57)
ME	11,1	20,2	(57)

Um einen Eindruck von der Stoffwechselaktivität der Dünndarmschleimhaut zu vermitteln, wurden in Tab. 14 die Enzymaktivitäten verschiedener Gewebe gegenübergestellt. Sie erweist sich dabei als Gewebe mit beachtlicher enzymatischer Leistung.

Tabelle 14:

Vergleich der Enzymaktivitäten in der Dünndarmschleimhaut mit denen anderer Gewebe.

Aktivitätsangaben in mU/g Frischgewicht

	Mukosa Ratte diese Arbeit	Cortex cerebri Ratte (43)	Herzmuskel Ratte (59)	Leber Ratte (8)
HK	352	4500	2350	
F-6-PK	7960	2040	10100	
GAPDH	37000	75000	139000	141000
LDH	265000	30000	345000	307000
GDH	10700	1500	3930	83300
GP-Ox	130	1665		
G-6-PDH	2780	915	225	2670
ME	550		766	
D-IDH	320	4590		
I-IDH	6000	833		
Succ-Ox	530	6250		
HOADH	11000	1500	28700	

Bei unseren Untersuchungen ist die Glykolyse als Hauptweg des Embden-Meyerhof-Abbauweges durch acht Enzyme vertreten. Ho und Anderson (24), Srivastava und Hübscher (53) sowie Wahle u.a. (58) beschrieben die Hexokinase als Schrittmacherenzym der Glykolyse. Auch bei uns hat sie die niedrigste Aktivität in diesem System, liegt jedoch noch deutlich

niedriger als bei den anderen Autoren. Diese Diskrepanz dürfte auf ihre unvollständige Anwesenheit im Extrakt und die unterschiedlichen Bestimmungsmethoden zurückzuführen sein. Srivastava und Hübscher (56) fanden nur 36,4 % der Hexokinaseaktivität des Homogenates im Extrakt wieder. Auch bei Ho und Anderson (24) lag eine erhebliche Differenz zwischen den Aktivitäten im Homogenat und im klaren Überstand vor. Schließlich wird die Hexokinase noch durch andere Faktoren wie Diät (50), Hunger (55, 56), Alter der Tiere (55), Perfusion (40), Erwärmung (56) und Lagerung (58) beeinflusst. Daß die Perfusion zu einer Verminderung der Aktivität führt, zeigt auch die deutlich höhere Aktivität bei Kontrolltieren ohne jegliche Manipulation des Darmes.

Die F-6-PK hat eine erheblich höhere Aktivität als die Hexokinase, was mit den Ergebnissen von Ho und Anderson (24) übereinstimmt.

Die Vertreter der "Phospho-Triose-Glycerat Gruppe" (43) GAPDH, PGK und EN zeigen die auch in anderen Geweben vorliegenden (43, 44, 45, 17, 9) konstanten Proportionen zueinander bei relativ niedriger Aktivität der GAPDH.

Die höchste enzymatische Aktivität bei den gemessenen glykolytischen Enzymen hat die LDH. Offensichtlich erfolgt in der Mukosa ein rascher Abbau des anfallenden Pyruvates zum Laktat, wodurch das reduzierte Pyridinnukleotid NAD wieder für die Substratkettenphosphorylierung frei wird. Die hohe Ausstattung dieses Schrittes muß als Zeichen hoher anaerober Energiegewinnung gewertet werden (30).

Als weiterer Hinweis für eine hohe anaerobe Stoffwechselleistung ist die niedrige Aktivität des "Glycerophosphat-Zyklus" anzusehen. Dieses System aus der cytoplasmatischen GDH und der mitochondrialen GP-Ox ermöglicht einen Einstrom aktivierten cytoplasmatischen Wasserstoffes in die Mitochondrien (43, 61, 9). Die strukturgebende GP-Ox

zeigt bei allen Untersuchungen nur eine niedrige Aktivität und man kann diesem Transportweg deshalb nur eine untergeordnete Funktion in der Mukosa zuordnen.

Die direkte Glukoseoxydation über den Pentose-Phosphat-Shunt hat nur geringen Anteil an der Energiegewinnung. Seine eigentliche Bedeutung dürfte in der Bereitstellung von Zwischenprodukten für den Intermediärstoffwechsel und von NADPH für Biosynthesen (30) liegen. Die G-6-PDH, erstes Enzym dieses Abbauweges der Glukose, hat etwa dieselbe Aktivität wie in der Leber und liegt erheblich näher an der GAPDH als in anderen Geweben (43).

Bei den untersuchten Enzymen des Trikarbonsäure-Zyklus imponiert besonders die hohe Aktivität der NADP-abhängigen T-IDH. Auch sie überträgt den aktiven Wasserstoff auf das Triphosphopyridinnukleotid und macht ihn dadurch für Biosynthesen zugänglich. Das für den oxydativen Endabbau über die Atmungskette wichtigere Enzym D-IDH zeigt ebenso wie die Succ-Ox nur eine minimale Aktivität (18, 30).

Als repräsentatives Enzym der Beta-Oxydation der Fettsäuren wurde die HOADH bestimmt. Die Aktivität liegt in demselben Größenordnungsbereich wie das Condensing Enzym, Starterenzym des Krebs-Zyklus.

Der Wiederaufbau der Glukose über die Glukoneogenese, vertreten durch die FDP, scheint in der Dünndarmschleimhaut unbedeutend zu sein.

Verbindendes Enzym zwischen Glykolyse, Glukoneogenese und Zitratzyklus ist das Malic-Enzym. Es katalysiert die Carboxylierung des Pyruvates zum Malat, wobei NADPH verbraucht und NADH gebildet wird. Seine zellphysiologische Bedeutung liegt also in der Einschleusung von Pyruvat in die Glukoneogenese über die Utter-Reaktion, in der Transhydrogenierung von NADPH zu NADH und in der Bereitstellung von Oxy-lacetat für den Zitratzyklus. Mit 33 mikroMol/h/g frisch

hat es etwa dieselbe Aktivität wie im Herzmuskel (43, 30).

Die Beziehung der einzelnen Stoffwechselwege zueinander wird durch Berechnung der "Systemkorrelationen" (43) überschaubar (Tab.15). Offensichtlich steht der Glukoseabbau über die Glykolyse im Vordergrund, wobei eine hohe Abbaurate zum Laktat angenommen werden muß. Fettsäureabbau und Zitratzyklus zeigen etwa gleiche Größenverhältnisse. Ähnliche Proportionen liegen im Herzmuskel der Ratte vor. Im Gegensatz zum sauerstoffbedürftigen Herzmuskel findet man in der Mukosa jedoch nur eine niedrige Aktivität der Succinat-Oxydase. Sie ist ein strukturgebendes Enzym und stellt eine direkte Verbindung zwischen Zitratzyklus und Atmungskette her (30). In mehreren Geweben wurde ihre konstante Proportion zum Cytochrom C nachgewiesen (43). Ihre niedrige Aktivität sowie die bereits erwähnten niedrigen Aktivitäten der D-IDH und des Glycerophosphat-Zyklus weisen auf eine relativ niedrige Energiegewinnung über den oxydativen Endabbau hin.

Die angegebenen Untersuchungen wurden nach Perfusion des Darmes und tiefgekühlter Lagerung durchgeführt. Bei diesen Manipulationen könnte es zum Beispiel durch Abschilferung von Zellen zu Aktivitätsverlusten kommen. Solche Fehler gingen jedoch in die Gruppe der Kontroll-, hypophysektomierten und substituierten Tiere gleichermaßen ein. Eine Gegenüberstellung von spezifischen Enzymaktivitäten mit und ohne Perfusion der untersuchten Darmabschnitte bei auch sonst nicht ganz identischen Voraussetzungen (Tab. 12 a und 12 b) zeigt nur bei der D-IDH, HK und HOADH einen wesentlichen Aktivitätsverlust nach Perfusion.

Tabelle 15:

Relationen von Bezugsenzymen proportionskonstanter Gruppen: "Systemkorrelationen"

System- korrelationen	<u>Glykolyse</u> <u>Fettsäure-</u> <u>abbau</u>	<u>Glykolyse</u> <u>Citrat-</u> <u>Zyklus</u>	<u>Fettsäure-</u> <u>abbau</u> <u>Citrat-Zyklus</u>
Bezugs- Enzyme	<u>GAPDH</u> <u>HOADH</u>	<u>GAPDH</u> <u>CE</u>	<u>HOADH</u> <u>CE</u>
Kontrollratten	3,36	4,75	1,41
hypophysektomierte Ratten	2,05	3,43	1,67
hypophysektomierte Ratten nach <u>S T H</u> Substitution	2,03	4,00	1,97
hypophysektomierte Ratten nach <u>A C T H</u> Substitution	3,07	4,22	1,38
hypophysektomierte Ratten nach <u>G T H</u> Substitution	2,53	3,33	1,32
Herzmuskel, Ratte (43)	3,10	4,00	1,30

Aktivitäten der Bezugsenzyme in mU/g Frischgewicht

2. Das Enzymmuster bei Hypophysektomie

Die Hypophysektomie führt zu einer Verkleinerung des Darmes (51, 3, 14, 19, 12, 49, 21, 60), die mit einer Schleimhautatrophie (14, 19, 21) mit Verkürzung und Verplumpung der Zotten im Sinne eines hyporegeneratorischen Umbaues einhergeht (46). Ihr Einfluß auf die Enzymaktivitäten der Dünndarmmukosa wurde bisher nur selten untersucht. Havivi und Levitan (20) fanden 4 bis 7 Tage nach Hypophysektomie eine gesteigerte Aktivität der Hexokinase, während diese bei Nishikawara und Gabrielson (42) 3 bis 4 Wochen nach Hypophysenentfernung vermindert war. Selbst die vorliegenden funktionellen in-vitro-Studien lassen sich nicht in ein einfaches Schema einordnen (36). So fanden Finkelstein und Schachter (13) nach Hypophysektomie für Calcium, Prolin und Eisen eine herabgesetzte Transportrate der Schleimhaut, der Galaktosetransport war dagegen gesteigert. Auch der Glukosetransfer scheint durch die Hypophysektomie verstärkt zu werden, wie aus den Arbeiten von Zaccheo und Levitan (60) und Chalfin und Gelb (6) hervorgeht. Havivi und Levitan (20) erwähnen schließlich noch einen erhöhten oxydativen Endabbau der Glukose in der Schleimhaut als Hypophysektomiefolge.

Diese differenzierten Veränderungen nach Hypophysektomie spiegeln sich auch in unseren Ergebnissen wider. Bei Betrachtung der Aktivitätsverschiebungen pro Gewichts- und DNS-Einheit (Abb.4) steht der Aktivitätsverlust der glykolytischen Enzyme im Vordergrund. Dagegen bleiben die mitochondrialen Enzyme, Vertreter und Zitratzyklus und des Fettsäureabbaues, praktisch unbeeinflußt. Die Proportionsverschiebungen zwischen den einzelnen Stoffwechselwegen kommen auch in den Systemkorrelationen zum Ausdruck (Tab.15).

Die Korrelationen der beiden mitochondrialen Systeme (Fettsäureabbau und Citrat-Zyklus) bleiben in allen Ver-

suchsreihen nahezu unverändert. Die Beziehungen der mitochondrialen Bezugsenzyme zur GAPDH zeigen jedoch deutliche Verschiebungen, die eine Aktivitätsminderung der Glykolyse wiedergeben und als Zeichen einer verminderten anaeroben Energiegewinnung über die Glykolyse bei nahezu gleichbleibendem oxydativem Endabbau gewertet werden müssen. Auch die gesteigerten Aktivitäten der G-6-PDH und des ME weisen auf einen verstärkten Substratfluß aus dem anaerob arbeitenden Embden-Meyerhof-Abbauweg hin. Diese Anzeichen für eine Bevorzugung der Energiegewinnung über den oxydativen Endabbau dürfte mit den bereits erwähnten Ergebnissen von Havivi und Levitan (20) im Zusammenhang stehen.

Für die Hexokinase wurde von uns nach Hypophysektomie eine leicht erhöhte Aktivität gemessen.

Scheinbar im Widerspruch zu den Aktivitätsverlusten pro Gewichts- und DNS-Einheit steht die Zunahme der spezifischen Aktivitäten zahlreicher Enzyme (Abb.5). Die Diskrepanz kann nur im Zusammenhang mit der Veränderung der Proteinkonzentration verstanden werden; nach Hypophysektomie war sie um etwa 33 % pro Gewichts- und 35 % pro DNS-Einheit abgefallen (Tab. 2 und 3).

Unmittelbar vergleichbare Untersuchungen anderer Autoren liegen nicht vor. Tab. 16 enthält eine Berechnung des Protein-DNS-Quotienten aus den Ergebnissen ähnlicher Untersuchungen.

Righetti u.a. (47) fanden 6 Tage nach Hypophysektomie keine Veränderung der Protein- und DNS-Verteilung; die Protein-DNS-Relation aus den Ergebnissen von Havivi u.a. (21) (Tab.16) weist jedoch auf Verschiebungen in der Dünndarmwand hin, die sich auch aus unseren Ergebnissen für die Schleimhaut ergeben.

Tabelle 16:

Die Protein- und DNS-Verteilung im Dünndarm normaler und hypophysektomierter Ratten.

Vergleich der eigenen Ergebnisse mit denen anderer Autoren.

	<u>mg Protein</u> <u>g frisch</u>	<u>mg DNS</u> <u>g frisch</u>	<u>mg Protein</u> <u>mg DNS</u>
Hellthaler (23) Dünndarmwand	123,1	7,52	16,4
Righetti (47) Dünndarmmukosa			
Normaltiere	94,09	3,47	27,1
6 Tage nach Hypophysektomie	98,11	3,73	26,3
Eigene Ergebnisse Jejunummukosa			
Normaltiere	53,00	1,302	41,8
Hypophysektomie	35,3	1,369	26,8
	<u>mg Gesamt-</u> <u>Protein</u>	<u>mg Gesamt-</u> <u>P-DNS</u>	<u>mg Protein</u> <u>mg P-DNS</u>
Havivi (21) Dünndarmwand			
Normaltiere	613,54	2,58	237
nach Hypophysektomie	338,41	1,88	180

Da sich der DNS-Gehalt der Mukosa nach Hypophysektomie kaum ändert kann man annehmen, daß die Zahl der Zellen relativ konstant bleibt. Die Verminderung des Proteingehaltes bei gesteigerter spezifischer Aktivität der Enzyme des Energiestoffwechsels spricht dafür, daß sich die Einzelzelle verkleinert bei weitgehend erhaltener Ausstattung an allgemeinen Funktionen. Die Verminderung der Aktivitäten vor allem im Bereich der Glykolyse bei Bezug auf DNS zeigt zwar eine gestörte Synthese der Enzyme dieses Bereiches an, der Proteinverlust muß aber vor allem auf Kosten spezifischer Funktionen der Mukosazelle gehen wie den Enzymen des Bürstensaumes oder vielleicht bei Transportproteinen.

Der Gewichtsverlust der Tiere nach Hypophysektomie, ein bekannter Effekt (20, 21, 34, 36) läßt sich einmal auf den Ausfall des STH zurückführen. Zum anderen kommt es zu einer verminderten Nahrungsaufnahme (36). Daß das Fehlen des STH eine Rolle spielt, zeigt sich an der Gewichtszunahme nach Substitution mit diesem Hormon, welche nach Substitution mit ACTH und GTH ausbleibt. Da in unserer Untersuchung keine pair-fed-Kontrollen durchgeführt wurden, läßt sich der Anteil einer verminderten Kalorienaufnahme auf die beobachteten Effekte bei Hypophysektomie nicht abschätzen. Möglicherweise umfaßt er jenen Anteil, der durch STH nicht völlig normalisiert wurde.

3. Das Enzymmuster bei Substitution

Die regelmäßige Zufuhr somatotropen Hormones führt bei den hypophysektomierten Versuchstieren zu einer deutlichen Gewichtszunahme. Leblond und Carriere (34) kamen zu ähnlichen Ergebnissen. Dorchester und Haist (12) wiesen den Gewichtsausgleich des Darmes nach STH-Substitution nach. Die Normalisierung der Proteinkonzentration dürfte wohl mit den anabolen Effekten des STH in Zusammenhang stehen (Tab. 2 und 3).

Tab. 3 zeigt einen leichten Anstieg der DNS-Konzentration nach STH-Substitution. Am ehesten könnte dies auf die bereits von Leblond und Carriere (34) beschriebene Steigerung der mitotischen Aktivität in den Lieberkühnschen Krypten durch Somatotropin zurückzuführen sein.

Die Beurteilung des STH-Einflusses auf die Energiestoffwechselenzyme der Dünndarmmukosa bereitet besondere Schwierigkeiten, zumal bisher keine vergleichbaren Untersuchungen vorliegen. Aus Abb. 7 war bereits hervorgegangen, daß ihre Aktivitäten durch STH nur geringfügig verändert werden. Die erwähnte Proteinvermehrung, die in der Normalisierung der spezifischen Aktivität ihren Ausdruck findet (Abb. 6), dürfte die Energiestoffwechselenzyme wohl kaum miteinschließen. Insbesondere unter Berücksichtigung der von Dorchester und Haist (12) beschriebenen Gewichtszunahme des Darmes nach STH-Substitution läßt sich vermuten, daß es sich dabei in erster Linie um Strukturproteine handelt.

Bei den spärlichen vorliegenden Untersuchungsergebnissen dürfte es nicht angebracht sein, Beziehungen zu funktionellen STH-Effekten herzustellen, z.B. der Normalisierung der Ca-Resorption bei hypophysektomierten Ratten (13).

Die Hypophysektomie geht mit einer Insuffizienz der Nebennierenrinden einher, die im Abfall des Plasmakortisolspiegels ihren Ausdruck findet. Bei den Substitutionsversuchen ließ sich kein bedeutender Einfluß des ACTH auf die Energiestoffwechselenzyme nachweisen; lediglich die beschriebene Verschiebung der Systemproportionen (Tab.15) scheint ausgeglichen und die spezifische Aktivität als Zeichen einer leichten Proteinvermehrung etwas gesenkt zu werden.

Die Substitution mit gonadotropem Hormon führte bei keiner Untersuchung - Gewicht-, Protein- und DNS-Konzentration, Enzymaktivitätsmuster sowie Systemkorrelationen -

zu einem Ausgleich von Hypophysektomieeffekten. Die leichte Verstärkung des Hypophysektomieeinflusses auf die Enzymaktivitäten könnte am ehesten Ausdruck einer zusätzlichen Schädigung durch die exogene GTH-Zufuhr sein.

V. Zusammenfassung

1. In der Jejunumschleimhaut der Ratten wurden die Aktivitäten von 23 Energiestoffwechsellenzymen und der Protein- und DNS-Gehalt unter verschiedenen Voraussetzungen gemessen. 32 Tiere wurden transpalatinal hypophysektomiert und davon 7 Tiere nach 8 Wochen ohne Substitution untersucht. Den anderen Tieren wurde 4 Wochen nach Hypophysektomie über weitere 4 Wochen Hypophysenhormon in folgender Dosierung pro 100 g Rattengewicht intraperitoneal appliziert:
 - 11 Tieren 1 Einheit somatotropes Hormon
 - 9 Tieren 1 Einheit adrenocorticotropes Hormon
 - 5 Tieren 1 Einheit gonadotropes Hormon14 Tiere dienten als Kontrollen.
2. Das normale Enzymmuster der Jejunumschleimhaut ist gekennzeichnet durch eine hohe Aktivität der glykolytischen Enzyme und der Enzyme des Pentose-Phosphat-Shunt bei relativ niedriger Kapazität des Tricarbonsäurezyklus, des Glycerophosphatzyklus und der Glucoseogenese.
Die Vertreter der "Phospho-Triose-Glycerat-Gruppe" der Glykolyse - GAPDH, PGK und EN - zeigen die auch in anderen Geweben vorliegenden konstanten Proportionen.
Die einzelnen Stoffwechselwege haben untereinander dieselben Proportionen wie im Herzmuskel, erkennbar an gleichartigen "Systemkorrelationen".
3. Die Hypophysektomie führt zu einer Gewichtsabnahme der Versuchstiere und zu einer Abnahme der Proteinkonzentration in der Jejunummukosa um mehr als 30 % bei unveränderter DNS-Konzentration. Es ergibt sich daraus eine Verschiebung der Protein-DNS-Relation, die auf einen verminderten Proteingehalt der einzelnen Mukosazelle hinweist.

4. Bei den Enzymaktivitäten in der Jejunummukosa wird durch die Hypophysektomie ein unterschiedliches Verhalten in den einzelnen Bezugssystemen hervorgerufen: pro Gewichts- und DNS-Einheit erfahren die glykolytischen Enzyme und die GP-Ox einen diskreten Aktivitätsverlust, während die mitochondrialen Enzyme nahezu unbeeinflusst bleiben. Nur die HK, G-6-PDH und das ME zeigen gesteigerte Aktivitäten.

Die Verminderung der Enzymaktivitäten nach Hypophysektomie vor allem im Bereich der Glykolyse findet ihren Ausdruck in Verschiebungen der "Systemkorrelationen". Sie deutet eine Bevorzugung der Energiegewinnung nach Hypophysektomie über den oxydativen Endabbau gegenüber der anaeroben arbeitenden Glykolyse an.

Die spezifischen Aktivitäten fast aller Enzyme sind nach Hypophysektomie erhöht als Ausdruck einer verminderten Proteinkonzentration in der Mukosa.

5. Durch die Substitution mit somatotropem Hormon kommt es zu einer Gewichtszunahme der Tiere und zu einer Normalisierung der Proteinkonzentration in der Jejunummukosa, die mit einer Normalisierung der spezifischen Aktivitäten einhergeht.

Die Aktivitäten der Energiestoffwechselenzyme bei Bezug auf Frischgewicht und DNS bleiben nahezu unbeeinflusst.

6. Die Zufuhr von adrenocorticotropem und gonadotropem Hormon führt nicht zu einer Normalisierung der nach Hypophysektomie beobachteten Veränderungen; die Gewichte der Versuchstiere, die Proteinkonzentrationen in der Mukosa und die Aktivitäten der Energiestoffwechselenzyme der Jejunumschleimhaut bleiben unbeeinflusst.

VI. Literaturverzeichnis

1. Anderson, J.W. Gluconeogenesis in jejunal
and Rosendal, A.F. mucosa of guinea pig.
Biochem. Biophys. Acta. 304,
384 (1973)
2. Balan, M., Glucose-6-phosphat dehydro-
Zerner, C., genase activity in the mucosa
Aratei, H., and musculature of the duode-
Ababei, L. num and stomach of rats with
alimentary-conditioned reflex.
Experientia 25, 1033 (1969)
3. Bates, R.W., Evidence in the hypophy-
Miller, R.A., sectomized pigeon of a
Garrison, M.M. synergism among prolactin,
growth hormone, thyroxine
and prednisone upon weight
of the body, digestive tract,
kidney and fat stores.
Endocrinology 71, 345 (1962)
4. Bell, J.W. and The reaction of the pentose
Sherratt, H.S.A. phosphate cycle in the par-
particle-free supernatant frac-
tion from the mucosa of the
small intestine.
Comp. Biochem. Physiol. 20,
319 (1967)
5. Bickel, H. Veränderungen der Enzymaus-
stattung im Energiestoffwech-
sel menschlicher Thrombocyten
bei Lebercirrhose.
Inaugural-Dissertation an der
Medizinischen Fakultät der
Philipps-Universität Marburg
- 5a. Bücher, Th. Einfache und zusammengesetzte
Luh, W., optische Tests mit Pyridin-
Pette, D. nucleotiden.
In: Hoppe-Seyler/Thierfelder:
Handbuch der Physiologisch und
pathologisch-chemischen Ana-
lyse.
Bd. VI/A/p 292.
10.Auflage. Berlin-Göttingen-
Heidelberg, Springer (1964)

6. Chalfin, D.
and Gelb, A. Bidirectional flux of glucose,
histidine and proline across
jejunal sacs in hypophysecto-
mized rats.
Gastroenterology 54, 1224
(1968)
7. Clark, B. and
Sherratt, H.S.A. Glycolysis and oxydations in
preparations from small-
intestinal mucosa of four
species.
Comp. Biochem. Physiol. 20,
223 (1967)
- 7a. Dawson, I.
Pryse-Davies, I. The distribution of certain
enzyme systems in the normal
human gastrointestinal tract.
Gastroenterology 44, 745 (1963)
8. Delbrück, A.,
Schimassek, H.,
Bartsch, K.,
Bücher, Th. Enzymverteilungsmuster in eini-
gen Organen und in experimen-
tellen Tumoren der Ratte und
der Maus.
Biochem. Z. 331, 297 (1959)
9. Delbrück, A.,
Zebe, E. Über Verteilungsmuster von
Enzymen des Energie liefern-
den Stoffwechsels in Flugmuskel,
Sprungmuskel und Fettkörper von
Locusta migratoria und ihre cy-
tologische Zuordnung.
Biochem. Z. 331, 273 (1959)
10. Dickens, F.,
Weil-Malherbe, H. Metabolism of normal and tumor
tissue.
19. Metabolism of intestinal
mucous membrane
Biochem. J. 35, 7 (1941)
11. Documenta Geigy Wissenschaftliche Tabellen
6. Aufl., Basel (1960)
12. Dorchester, J.E.
and Haist, R.E. The effect of anterior pitui-
tary extracts, desiccated
thyroid, growth-hormone pre-
parations and ACTH on the
extractable secretin of the in-
testines of hypophysectonized
and intact rats.
J. Physiol. Lond. 119, 226 (1953)

- 12a. Fabry, P.,
Kujalová, V.,
Mosinger, B. Influence of somatotropic hormone on small intestine resorption of glucose.
Endocrinologie 38, 152 (1959)
13. Finkelstein, J.D.
and Schachter, D. Active transport of calcium by intestine: effects of hypophysectomy and growth hormone.
Am. J. Physiol. 203, 873 (1962)
14. Friedmann, M.M. The response of different regions of the gastrointestinal tract to normal and abnormal stimuli.
J. natn. Cancer Inst. 13, 1035 (1953)
15. Gerdes, H.,
Staib, W. Eine einfache spezifische Methode zur fluorometrischen Bestimmung von freiem Cortisol aus dem Harn.
Klin. Wschr. 43, 744 (1965)
16. Glock, G.E.,
Mc Lean, P. Levels of enzymes of the direct oxydative pathway of carbohydrate metabolism in mammalian tissues and tumors.
Biochem. J. 56, 171 (1954)
17. Goebell, H.,
Bickel, H.,
Bode, Ch.,
Egbring, R.,
Martini, G.A. Veränderte Aktivitäten der Enzyme des Energiestoffwechsels in Thrombozyten von Patienten mit Lebercirrhose und Splenomegalie.
Klin. Wschr. 46, 526 (1968)
18. Goebell, H.
und Kadenbach, B. DPN- und TPN-spezifische Isocitrat-Dehydrogenasen als Indikatorsysteme für die oxydativen und sythetischen Stoffwechselwege.
Verh. dtsh. Ges. inn. Med. p. 665 (1964)
19. Haeger, K.,
Jacobson, D. Atrophy of gastrointestinal mucosa following hypophysectomy or adrenalectomy.
Acta physiol. scand. 30 (Suppl.111), 161 (1953)

20. Havivi, E.
and Levitan, R. Hexokinase activity in intestinal mucosa of hypophysectomized rats.
Am. J. Physiol. 215, 330 (1968)
21. Havivi, Y.,
Havivi, E.,
Levitan, R. Histology and chemical composition of the small bowel of hypophysectomized rats.
Am. J. dig. Dis. 113, 735 (1968)
22. Hele, M.P. The phosphorylation and absorption of sugars in the rat.
1. Hexokinase activity in the intestinal mucosa.
Biochem. J. 55, 857 (1953)
23. Hellthaler, G.,
Köhler, H.,
Rotzsch, W. DNS-, RNS- und Proteingehalt des Dünndarms der Ratte in Abhängigkeit vom Lebensalter.
Z. Altersforsch. 23, 139 (1970)
24. Ho, W.,
Anderson, J.W. Phosphofructokinase in rat jejunal mucosa. Subcellular distribution, isolation and characterization.
Biochim, Biophys. Acta 227, 354 (1971)
25. Hsu, L.,
Tarver, H. Distribution of the activity of various hydrolases, transaminases and glutamic dehydrogenase in the digestive tracts of fed and fasted rats.
Gastroenterology 53, 78 (1967)
26. Hübscher, G.,
Clark, B.,
Webb, M.E.
Sherrat, H.S.A. In Biochemical Problems of Lipids, p. 201 Ed. by Frazer, A. G. Amsterdam:
Elsevier Publishing Co. 1963
27. Hübscher, G.,
Sherrat, H.S.A. Oxydations and glycolysis in subcellular fractions from small-intestine mucosa.
Biochem. J. 84, 23 p (1962)
28. Hübscher, G.,
West, G.R.,
Brindley, D.N. Studies on the fractionation of mucosal homogenates from the small intestine.
Biochem. J. 97, 629 (1965)

29. Johnson, L.R.,
Chandler, A.M. RNA and DNA of gastric and duodenal mucosa in antrectomized and gastrin-treated rats. Am. J. Physiol. 224, 937 (1973)
30. Karlson, P. Kurzes Lehrbuch der Biochemie. 6.Aufl., Thieme Verlag Stuttgart (1967)
- 30b. Keidel, W.D. Kurzgefaßtes Lehrbuch der Physiologie 1.Aufl., Thieme Verlag Stuttgart (1967)
31. Klein, U.E.,
Drube, H.C.,
Hansen, H.Th. Untersuchungen über Muster und Verteilung von Enzymen in der Schleimhaut des menschlichen Gastrointestinaltraktes. Klin. Wsch. 45, 244 (1967)
II. Mitteilung: Histochemische und ergänzende Isoenzymuntersuchungen.
32. Klein, U.E.
Drube, H.C.,
Hansen, H.Th.,
Mielke, H. Untersuchungen über Muster und Verteilung von Enzymen in der Schleimhaut des menschlichen Gastrointestinaltraktes. III. Elektrophoretische Charakterisierung in multiplen Formen vorkommender Enzyme der Magen-, Dünndarm- und Rektumschleimhaut und vergleichende Serumanalysen. Klin. Wschr. 45, 95 (1967)
33. Kubát, K.,
Koldovský, O. The oxydative enzymes in the wall of the small intestine of young rats during postnatal development. Acta Histochem. 33, 75 (1969)
34. Leblond, C.P.,
Carriere, R. The effect of growth hormone and thyroxine on the mitotic rate of the intestinal mucosa of the rat. Endocrinology 56, 261 (1955)
35. Leblond, C.P.,
Stevens, C.E. The constant renewal of the intestinal epithelium in the albino rat. Anat. Rec. 100, 357 (1948)

36. Levin, R.J. The effects of hormones on the absorptive, metabolic and digestive functions of the small intestine.
J. Endocr. 45, 315 (1969)
- 37a. Linder, A. Statistische Methoden. 2.Aufl. Birkhauser-Verlag (Basel-Stuttgart) (1957)
37. Long, C. Studies involving enzymic phosphorylation. 1. The hexokinase activity of rat tissues.
Biochem. J. 50, 407 (1952)
38. Lüthy, E.,
Verzár, F. Adenosinetriphosphatase and hexokinase in the epithelium of the small intestine in normal and adrenalectomized rats.
Biochem. J. 57, 316 (1954)
39. Marner, L.,
Andrup, E.,
Laursen, T.,
Ludvigsen, J.,
Walbom-Jorgensen, S. Glutamic-oxaloacetic transaminase, Glutamic-pyruvic transaminase, and Lactic dehydrogenase in the jejunum.
Enzymol. biol. clin. 2, 61 (1963)
40. Mayer, R.J.,
Shakespeare, P.,
Hübscher, G. Glucose metabolism in the mucosa of the small intestine. Changes of hexokinase activity during perfusion of the proximal half of rat small intestine.
Biochem. J. 116, 43 (1970)
41. Menge, H.,
Bloch, R.,
Schaumlöffel, E.,
Riecken, E.O. Transportstudien, morphologische, morphometrische und histochemische Untersuchungen zum Verhalten der Dünndarmschleimhaut im operativ ausgeschalteten Jejunalabschnitt der Ratte.
Z. ges. exp. Med. 153, 74 (1970)
42. Nishikawara, M.T.,
Gabrielson, E. Hexokinase and phosphatase activities of the intestinal mucosa in hypophysectomized and thyroid-treated hypophysectomized rats.
Endocrinology 68, 855 (1961)

43. Pette, D. Plan und Muster im zellulären Stoffwechsel. Naturwissenschaften 52, 597 (1965)
44. Pette D. und Brandau H. Enzym-Histigramme und Enzymaktivitätsmuster der Rattenleber. Enzym. biol. clin. 6, 79 (1966)
45. Pette, D., Luh, W., Bücher, Th. A constant-proportion group in the enzyme activity pattern of the embden-meyerhof chain. Biochem. Biophys. Res. Comm. 7, 419 (1962)
- 45a. Report of the Commission on Enzymes of the International Union of Biochemistry. In: Comprehensive Biochemistry. Vol 13. Amsterdam-London-New York (1964)
46. Riecken, E.O., Martini, G.A. Die Klassifizierung pathologischer Dünndarmschleimhautbilder. Morphologie, Funktion und diagnostische Bedeutung. Dtsch. Med. Wochenschr. 98, 998 (1973)
47. Righetti, A., Levitan, R. Small bowel absorption in hypophysectomized rats. Amer. J. Dig. Dis. 15, 218 (1970)
48. Rosenthal, O. The metabolism of the mucosa of the small intestine. Fed. Proc. 6, 286 (1947)
49. Schooley, J.P., Riddle, O., Bates, R.W. Replacement therapy in hypophysectomized juvenile pigeons. Am. J. Anat. 69, 123 (1941)
50. Shakespeare, P., Srivastava, L.M., Hübscher, G. Glucose metabolism in the mucosa of the small intestine. The effect of glucose on hexokinase activity. Biochem. J. 111, 63 (1969)
51. Smith, P.E. Hypophysectomy and replacement therapy in rats. Amer. J. Anat. 45, 205 (1930)
52. Sols, A. The Hexokinase activity of the intestinal mucosa. Biochim. Biophys. Acta 19, 144 (1956)

Für die Überlassung der Arbeit danke ich Herrn Prof. Dr. med. G.A. Martini, der mir ein Arbeiten unter günstigen Voraussetzungen ermöglichte.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. H. Goebell für die freundliche Anleitung und selbstlose Unterstützung bei dieser Arbeit. Weiterhin danke ich Herrn Prof. Dr. med. A. Uhlarik, Herrn Prof. Dr. med. H. Gerdes, Herrn Dr. med. H. Menge und Herrn K. Warm für die angegebenen Voruntersuchungen.

Lebenslauf

Am 6. März 1947 wurde ich als Sohn des Angestellten Martin Grebe und seiner Ehefrau, Meta geb. Przewerzinski in Niedergrenzebach, Kreis Ziegenhain, geboren.

Im Frühjahr 1953 trat ich in die Volksschule in Ziegenhain ein, besuchte danach das Real-Gymnasium Schwalmschule in Treysa und legte dort am 3. November 1966 die Reifeprüfung ab.

Das Medizinstudium begann ich 1967 an der Philipps-Universität in Marburg, an der ich 1970 die ärztliche Vorprüfung und am 6. September 1973 das Medizinische Staatsexamen bestand.

Als Medizinalassistent war ich an der Medizinischen Universitätspoliklinik und Chirurgischen Universitätsklinik in Marburg und an der Inneren Abteilung des Kreiskrankenhauses Bad Hersfeld tätig. Im September 1974 erhielt ich die Approbation als Arzt. Seitdem absolviere ich eine internistische Facharztausbildung am Kreiskrankenhaus Bad Hersfeld.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten in Marburg:

Amon, Berendes, Buchholz, Daume, Dimroth, Dölle, Exner, Friedrich, Ganz, Goebell, Graul, Hamelmann, Hensel, Hess, Heuser, Hildebrandt, Hort, Jakob, Karlson, Klaus, Koecke, Linneweh, Mahr, Martini, Massarat, Nultsch, Petry, Pots, Reim, Riecken, Rodeck, Rohen, Schiff, Schleyer, Schmitz-Moormann, Seidel, Siegert, Straub, Strohmeyer, Voss, Walcher.

